

**Zur Analytik der  
Ginseng- und Eleutherococcusdroge**

**Angelika Obermeier**

1981







Zur Analytik der  
Ginseng- und Eleutherococcuströge

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades  
der  
Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der  
Ludwig-Maximilians-Universität  
München

vorgelegt  
von  
Angelika Obermeier  
aus  
München

---

November 1980



1. Berichterstatter: Professor Dr. H. W a g n e r
  2. Berichterstatter: Professor Dr. Th. S e v e r i n
- Tag der mündlichen Prüfung: 28. Januar 1981

# I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

|                                                                                                           | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| E I N L E I T U N G . . . . .                                                                             | 1     |
| A L L G E M E I N E R   T E I L . . . . .                                                                 | 2     |
| 1. Panax ginseng - in Geschichte und Arzneibuch . . .                                                     | 2     |
| 2. Pharmakologie, Toxizität, Dosierung und Anwendung                                                      | 3     |
| 2.1. Pharmakologische Wirkung . . . . .                                                                   | 3     |
| 2.2. Toxizität . . . . .                                                                                  | 3     |
| 2.3. Dosierung . . . . .                                                                                  | 5     |
| 2.4. Anwendung . . . . .                                                                                  | 5     |
| 3. Chemie der Inhaltsstoffe . . . . .                                                                     | 7     |
| 4. Botanik und Handelsdrogen . . . . .                                                                    | 10    |
| 5. Ersatzdrogen und Verfälschungen . . . . .                                                              | 11    |
| 6. Bisherige quantitative Bestimmungsmethoden für<br>Saponine . . . . .                                   | 14    |
| 7. Bisher durchgeführte quantitative Methoden für die<br>Ginsengdroge . . . . .                           | 15    |
| 7.1. Photometrie . . . . .                                                                                | 15    |
| 7.2. Gaschromatographie . . . . .                                                                         | 16    |
| 8. Neue Methode zur Bestimmung der Ginsenoside durch<br>Fluoreszenz-Spektrophotometrie nach DC-Trennung . | 17    |
| 8.1. Wahl von Adsorbens, Laufmittelgemisch und Detek-<br>tionsmittel . . . . .                            | 18    |
| 8.2. Fluoreszenzmeßanordnung und apparative Angaben .                                                     | 21    |
| 8.3. Auswertung der Ortskurven . . . . .                                                                  | 25    |
| 8.4. Genauigkeit der Auftrageweise und des Meßver-<br>fahrens . . . . .                                   | 25    |
| 8.5. Proportionalität von Saponinkonzentration und<br>Fluoreszenzintensität . . . . .                     | 27    |
| 8.6. Fluoreszenzverhalten in Abhängigkeit von der Zeit                                                    | 28    |
| 8.7. Wiederfindungsrate . . . . .                                                                         | 28    |
| 8.8. Ortskurven der Ginsenosid Re - Konzentrations-<br>reihe als Eichgerade und statistische Ergebnisse   | 29    |
| 8.9. Überprüfung verschiedener Extraktionsmethoden aus<br>Panax ginseng . . . . .                         | 32    |

|                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8.10. Getrenntbestimmung der Ginsenoside Rb <sub>1</sub> und Rb <sub>2</sub>                                                                                                                                             | 36 |
| 8.11. Bestimmung der Ginsenoside in einem Methanol-<br>Extrakt aus Ginseng-Seitenwurzeln . . . . .                                                                                                                       | 38 |
| 8.12. Diskussion der Ergebnisse . . . . .                                                                                                                                                                                | 43 |
| 8.13. Ginsenosid-Zusammensetzung und Ginsenosid-Bestimmung in Wurzelauszügen von "rotem" und<br>"weißem" Ginseng, <i>Panax quinquefolius</i> , <i>Panax</i><br><i>pseudoginseng</i> und <i>Panax japonicus</i> . . . . . | 44 |
| 8.13.1. Dünnschichtchromatographie von weißer und<br>roter Ginsengwurzel . . . . .                                                                                                                                       | 47 |
| 8.13.2. DC von <i>Panax pseudoginseng</i> . . . . .                                                                                                                                                                      | 47 |
| 8.13.3. DC von <i>Panax quinquefolius</i> . . . . .                                                                                                                                                                      | 47 |
| 8.13.4. DC von <i>Panax japonicus</i> . . . . .                                                                                                                                                                          | 48 |
| 8.13.5. Unterscheidung der verschiedenen <i>Panax</i> -Arten                                                                                                                                                             | 48 |
| 8.13.6. Quantitative Auswertung der DC-Direktbestimmungen von verschiedenen <i>Panax</i> -Wurzelextrakten                                                                                                                | 49 |
| 8.14. Ginsenosidgehalt der Ginsengdroge in Abhängigkeit von äußeren Faktoren . . . . .                                                                                                                                   | 53 |
| 8.15. Bestimmung der Ginsenoside und des Ginsenosid-Gesamtgehaltes in Handelspräparaten (HP) . . .                                                                                                                       | 54 |
| 8.15.1. Durchführung der Ginsenosid-Bestimmung aus<br>Ginseng-Gelatine-Kapseln . . . . .                                                                                                                                 | 55 |
| 8.15.2. Bestimmung der Ginsenoside in Ginseng-Tonika                                                                                                                                                                     | 56 |
| 8.15.3. Diskussion der Ergebnisse . . . . .                                                                                                                                                                              | 62 |
| 9. Neue Ginseng-Bestimmungen, die nach Beendigung der<br>vorliegenden experimentellen Arbeit erschienen . .                                                                                                              | 65 |
| 10. <i>Eleutherococcus</i> in der Volksmedizin . . . . .                                                                                                                                                                 | 68 |
| 11. Botanik . . . . .                                                                                                                                                                                                    | 68 |
| 12. Chemie der Inhaltsstoffe . . . . .                                                                                                                                                                                   | 71 |
| 13. Pharmakologie . . . . .                                                                                                                                                                                              | 73 |
| 14. DC-Analyse des Extraktes von <i>Eleutherococcus</i><br><i>senticosus</i> . . . . .                                                                                                                                   | 74 |
| 15. DC-Untersuchung von <i>Eleutherococcus</i> - und <i>Panax</i> -<br>Extrakten . . . . .                                                                                                                               | 77 |
| 16. Identitätsnachweis von <i>Eleutherococcus senticosus</i><br>durch Densitometrie . . . . .                                                                                                                            | 80 |

|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ZUSAMMENFASSUNG . . . . .                                                                                        | 83  |
| EXPERIMENTELLER TEIL . . . . .                                                                                   | 85  |
| 17. Herkunft des Pflanzenmaterials . . . . .                                                                     | 85  |
| 18. Herkunft der Vergleichssubstanzen . . . . .                                                                  | 85  |
| 19. Allgemeine Arbeitsmethoden . . . . .                                                                         | 85  |
| 19.1. Dünnschichtchromatographie . . . . .                                                                       | 85  |
| 19.2. Säulenchromatographie . . . . .                                                                            | 87  |
| 19.3. Physikalisch-chemische Untersuchung . . . . .                                                              | 88  |
| 19.4. Allgemeine chemische Arbeitsmethode . . . . .                                                              | 88  |
| 20. Spezielle Arbeitsmethoden . . . . .                                                                          | 89  |
| 20.1. Apparative Angaben und Fluoreszenzmeßanordnung<br>(Panax ginseng) . . . . .                                | 89  |
| 20.2. Ginsenosid-Bestimmung in Ginseng-Drogen . . . . .                                                          | 89  |
| 20.2.1. Ginseng-Seitenwurzeln . . . . .                                                                          | 89  |
| 20.2.2. Panax ginseng, weiße Varietät . . . . .                                                                  | 90  |
| 20.2.3. Panax ginseng, rote Varietät, Panax pseudo-<br>ginseng, Panax quinquefolius und Panax jap. . . . .       | 91  |
| 20.3. Ginsenosidbestimmung in Ginseng-Handelspräparaten,<br>eindimensionale Methode . . . . .                    | 94  |
| 20.3.1. Ginseng-Gelatinekapseln . . . . .                                                                        | 94  |
| 20.3.2. Ginseng-Trockenextrakt . . . . .                                                                         | 94  |
| 20.3.3. Ginseng-Tonikum . . . . .                                                                                | 95  |
| 20.3.4. Ginseng-Fluidextrakt . . . . .                                                                           | 95  |
| 20.4. Ginsenosidbestimmung in Ginseng-Handelspräparaten,<br>zweidimensionale Methode . . . . .                   | 95  |
| 20.5. Apparative Angaben und Fluoreszenzmeßanordnung<br>für die Untersuchungen von Eleutherococcus sent. . . . . | 104 |
| 20.6. DC-Analyse des Extraktes von Eleutherococcus sent. . . . .                                                 | 104 |
| 20.6.1. Auftragung . . . . .                                                                                     | 104 |
| 20.6.2. Entwicklung der DC-Platte . . . . .                                                                      | 104 |
| 20.6.3. Detektion der DC-Platte . . . . .                                                                        | 104 |
| 20.6.4. Hydrolyse der Triterpensaponin-Fraktion . . . . .                                                        | 105 |
| 20.6.5. Säulenchromatographie . . . . .                                                                          | 105 |
| LITERATURVERZEICHNIS . . . . .                                                                                   | 107 |



## E I N L E I T U N G

Die seit vermutlich mehr als 5000 Jahren in Ostasien als Heilmittel verwendete Wurzel von *Panax ginseng* hat in den letzten Jahren auch im europäischen Drogenhandel wieder an Bedeutung zugenommen. Hauptursache für die Anwendung dieser Droge dürfte die tonisierende und vitalisierende Wirkung sein, die dieser Droge zugeschrieben wird. Der entscheidende wissenschaftliche Beitrag kam aus dem Laboratorium von SHIBATA und SHOJI in Tokio (1-5). Ihnen gelang in etwa zehnjähriger Arbeit, die Hauptinhaltsstoffe zu klären, so daß pharmakologische und biologische Untersuchungen durchgeführt werden konnten. Das Ergebnis bestätigte zu einem Teil die "Indikationen" der chinesischen Volksmedizin. Trotzdem wird die Ginsengwurzel erst dann Eingang in die Schulmedizin finden, wenn die Wirkungen der einzelnen Inhaltsstoffe der Droge genau bestimmt sind und Verfahren zur Standardisierung der Droge und Drogenzubereitungen existieren. Ziel dieser Arbeit war es, eine qualitative Analysenmethode und ein quantitatives Bestimmungsverfahren der bisher bekannten Inhaltsstoffe - den Ginsenosiden - in Ginseng-Wurzelextrakten und Arzneizubereitungen auszuarbeiten.

Eine andere Droge, die mit Ginseng verwandt und wie dieser Verwendung findet, ist die aus der UDSSR stammende Wurzel von *Eleutherococcus senticosus*. Obwohl die Hauptinhaltsstoffe nicht zur Saponinstoffgruppe gehören, wird der Wurzelauszug der Droge ebenfalls als Tonikum und "Adaptogen" verwendet. Die wichtigsten chemischen und pharmakologischen Untersuchungen wurden von BREKHMAN (6) und SANDBERG (7) durchgeführt. Auch für diese Droge war eine analytische Methode zu finden, die sich zur Identitäts- und Reinheitsprüfung bzw. zur routinemäßigen Qualitätsbeurteilung der Droge und ihrer Zubereitungen eignet.

P A N A X   G I N S E N G

A L L G E M E I N E R   T E I L

1. Panax ginseng - in Geschichte und Arzneibuch

Die menschenähnliche Form der Ginsengwurzel hat von jeher die Phantasie des Menschen angeregt und die Pflanze mit Mythos und Magie verknüpft. Der Name Ginseng stammt von Jen - shen 人蔘, was "menschenähnlich" bedeutet. In dem chinesischen Lehrbuch Shen - nung Pen - ts'ao - ching aus der zweiten Han - Zeit (8) findet man Ginseng zum ersten Mal schriftlich erwähnt. Hier wurden im ersten Jahrhundert n.Chr. die Wirkungen des Ginseng aufgezählt, die aus überlieferter medizinischer und pharmakologischer Erfahrung vorlagen. Die dort angegebenen Verwendungsmöglichkeiten beziehen sich darauf, "den Geist zu beruhigen, den Verstand und die Weisheit zu stärken und zu fördern und das Leben zu verlängern und zum anderen die Gesundheit der inneren Organe wieder herzustellen". Die in der Sung - Zeit (960 - 1276 n.Chr.) erschienenen Pharmakopöen nennen Ginseng als Roborans. Von da an findet sich Ginseng in allen chinesischen Pharmakopöen. In dem im 16. Jahrhundert in China entstandenen Pen-ts'ao kang-mu, der systematischen Drogenkunde von Li Shih-chen, nimmt Ginseng unter den insgesamt 1892 Pharmaka eine wichtige Stellung ein.

In der japanischen Pharmakopöe (62/II) (9) wird zwischen dem weißen und dem roten Ginseng unterschieden. In die koreanische Pharmakopöe (1975) (10) wurden der offizinelle und außerdem der amerikanische Ginseng aufgenommen. Auch im Arzneibuch IX der UdSSR (11), in deren östlichsten Gebieten Ginseng wächst, ist eine Ginseng-Monographie aufgeführt. Im deutschen Homöopathischen Arzneibuch (2.Auflage 1934) (12) sind die Wurzeln von *Aralia quinquefolia* DECNE u. *PLANCH* (nach Index Kewensis = *Panax ginseng* MEYER und *Panax quinquefolius* L. (13)) zur Bereitung einer Tinktur vorgeschrieben. In der neuesten amtlichen Ausgabe dieser Pharmakopöe (1.Ausgabe 1978) (14) wurde die

Monographie für die Ginsengwurzel jedoch gestrichen, obwohl Ginseng in der DHU ( = Deutsche Homöopathische Union) als Präparat geführt wird.

In der westlichen Literatur wird Ginseng in verschiedenen Lehrbüchern der Pharmakognosie und Phytochemie (15-19) erwähnt. In diesen sind auch die anderen Panax-Arten aus der Araliaceenfamilie z.T. als Ersatzdrogen genannt.

## 2. Pharmakologie, Toxizität, Dosierung und Anwendung

- 2.1. Die pharmakologische Wirkung der Ginsengdroge ist sehr komplex. Man muß daher zwischen der Anwendung von Ginseng-Extrakten und den erst im Laufe der letzten 10 Jahre isolierten Reinginsenosiden unterscheiden. Während dem Gesamtwurzelextrakt mehrere und z.T. sehr verschiedene Wirkungen auf den Organismus zugeschrieben werden, besitzen die Ginsenoside meist sehr spezifische Wirkungen (siehe Tab. 1, S. 4).
- 2.2. Toxizitätsprüfungen an Ratten ergaben für Ginsengwurzel auch bei peroraler Applikation von 2.1 g/kg keine Toxizitätserscheinungen (20). In Tabelle 2 sind die LD<sub>50</sub>-Werte der Ginsenoside zusammengestellt.

T a b e l l e 2

Toxizität der Ginsenoside, bestimmt in Mäusen (mg/kg i.p.)

| Ginsenosid                    | Rb <sub>1</sub> | Rb <sub>2</sub> | Rc  | Rd  | Re  | Rf   | Rg <sub>1</sub> |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----|-----|-----|------|-----------------|
| LD <sub>50</sub> (mg/kg i.p.) | 1110            | 305             | 410 | 324 | 405 | 1350 | 1250            |

## Wirkungen von Ginseng-Extrakten und -Reinsaponinen

| Wirkung                                                                         | Ginseng-Extrakt | Ginseng-Reinsaponin                                           | Literatur                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Adaptogen                                                                       |                 |                                                               |                                                |
| Steigerung der physischen Leistung                                              | +               |                                                               | $\begin{pmatrix} 6 \\ 6 \end{pmatrix}$         |
| Revitalisierende Kraft                                                          | +               |                                                               | $\begin{pmatrix} 21 \\ 22 \\ 22 \end{pmatrix}$ |
| ZNS                                                                             |                 |                                                               |                                                |
| Regelvorgänge im Nervensystem                                                   | +               | Rg <sub>1</sub><br>Rb <sub>2</sub>                            | $\begin{pmatrix} 23 \\ 24, 25 \end{pmatrix}$   |
| Stimulierung des ZNS                                                            |                 |                                                               | $\begin{pmatrix} 20 \\ 26 \\ 27 \end{pmatrix}$ |
| Zentraldämpfende Wirkung auf das ZNS                                            |                 |                                                               | $\begin{pmatrix} 28 \\ 26 \end{pmatrix}$       |
| Leber und Verdauung                                                             |                 |                                                               | $\begin{pmatrix} 27 \end{pmatrix}$             |
| RNA- und Proteinsynthese                                                        | +               | Saponinfraktion<br>Rb <sub>1</sub>                            | $\begin{pmatrix} 29 \\ 30 \end{pmatrix}$       |
| Stimulierung der Cholesterin-Synthese                                           |                 |                                                               | $\begin{pmatrix} 22 \\ 22 \end{pmatrix}$       |
| Senkung des Serum- und Lebercholesterinspiegels                                 | +               | Re                                                            | $\begin{pmatrix} 31 \\ 31 \\ 31 \end{pmatrix}$ |
| Steigerung der Pepsinproduktion                                                 | +               |                                                               | $\begin{pmatrix} 31 \\ 32 \\ 33 \end{pmatrix}$ |
| Steigerung der Darmmotorik                                                      | +               |                                                               |                                                |
| Kohlenhydratstoffwechsel                                                        | +               |                                                               |                                                |
| Regulierung bei hyperglykämischem Zustand                                       | +               |                                                               |                                                |
| Hypoglykämische Wirkung (Verstärkung der Glykogenolyse und Insulinpotenzierung) | +               |                                                               |                                                |
| Blutbild                                                                        |                 |                                                               |                                                |
| Steigerung der DNA, Protein- und Lipidsynthese                                  |                 | Rb <sub>2</sub> , Rc, Rg <sub>1</sub><br>Rb <sub>1</sub> , Rc | $\begin{pmatrix} 29 \\ 30 \end{pmatrix}$       |
| Steigerung der RNA-Synthese                                                     |                 |                                                               | $\begin{pmatrix} 22 \\ 22 \end{pmatrix}$       |
| Blutdruck                                                                       |                 |                                                               |                                                |
| Gefäßerweiterung, hypertone Wirkung                                             |                 | Rg <sub>1</sub><br>Rb <sub>1</sub>                            | $\begin{pmatrix} 31 \\ 31 \\ 31 \end{pmatrix}$ |
| Hypotone Wirkung                                                                |                 |                                                               |                                                |
| Nieren und Nebennieren                                                          |                 |                                                               |                                                |
| Antixsudative Wirkung                                                           | +               |                                                               |                                                |
| Antiinflammatorische Wirkung                                                    |                 |                                                               |                                                |
| Steigerung der Nebennierenfunktion                                              | +               | Rg <sub>2</sub>                                               |                                                |
| Hormone                                                                         |                 |                                                               |                                                |
| Stimulierung von ACTH                                                           | +               |                                                               | $\begin{pmatrix} 31 \\ 32 \\ 33 \end{pmatrix}$ |
| Gonadotrope Wirkung                                                             | +               |                                                               |                                                |
| Tumorwirkung (Sarkoma 180, Adenokarzinoma 755)                                  | +               |                                                               |                                                |

2.3. Die Dosierung richtet sich weitgehend nach der Art des angewandten Ginseng-Präparates. Der Handel unterscheidet zwei Präparatgruppen: vitaminhaltige Kombinationspräparate mit zumeist niedrigem Ginseng-Anteil und Präparate, die nur aus einer Ginseng-Zubereitung bestehen, oder zusätzlich noch Begleitstoffe enthalten (etwa 5 g bis 6 g Droge/100 ml bzw. 350 mg bis 500 mg/Kapsel oder Dragee). Die täglich applizierte Drogenmenge liegt hier bei 2 g bis 3 g (entsprechend etwa 50 mg bis 100 mg "Ginsenosiden")\* bzw. 0.5 g bis 1 g (entsprechend etwa 8 mg bis 50 mg "Ginsenosiden")\*. Bei der Einnahme von Ginseng konnten in der klinischen Prüfung keine Nebenwirkungen beobachtet werden (34). Kürzlich ist lediglich das Auftreten von Nervosität und Schlaflosigkeit beschrieben worden (33). Als Ursache können Überdosierung oder Verfälschung durch andere Drogen in Betracht kommen. In China wird über Unverträglichkeiten des Ginseng mit Veratrum, Rettich und Tee berichtet (8).

2.4. Die Anwendung der Ginseng-Präparate erfolgt heute noch überwiegend empirisch aufgrund der Überlieferung der chinesischen Medizin, neuerdings auch unter Bezug auf die zahlreichen, vor allem von japanischen Pharmakologen und Biochemikern durchgeführten Untersuchungen. Es ist schwer, die komplexe Wirkung des Ginseng auf den Menschen zu beurteilen, da z.T. antagonistische Wirkungen für einzelne Ginsenoside beschrieben werden. Folgende Indikationen werden für Ginseng angegeben: degenerative (6), kardio-vaskuläre (34) und psychische Erkrankungen (21), verminderte Leistungsfähigkeit (7) und Mangelsyndrome (36).

---

\* Diese Angaben beziehen sich zumeist auf Ginsenosid-Gesamtbestimmungen.

T a b e l l e 3

Inhaltsstoffe von Panax ginseng C.A.Meyer

| Inhaltsstoffe                                                                                                                                                          | Literatur                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Ätherisches Öl<br>Panacen                                                                                                                                              | B.LAY (37)                                  |
| Sterine<br>β-Sitosterin, Daucosterin                                                                                                                                   | L.HÖRHAMMER et al.(38)<br>T.KAKU et al.(39) |
| Fettsäuren<br>Ölsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure                                                                                                                     | H.J.SCHÖPFER (26)                           |
| Aminosäuren aus Peptiden<br>Prolin, Glycin, Alanin, Lysin, Arginin,<br>Cystein, Tyrosin, Asparaginsäure,<br>Threonin, Serin, Glutaminsäure, Leucin,<br>Valin, Histidin | F.GSTIRNER et al.(40)                       |
| Sesquiterpen<br>β-Element                                                                                                                                              | M.TAKAHASHI et al.(41)                      |
| Zucker<br>Monosaccharide: Fructose, Glucose,<br>Mannit                                                                                                                 | K.TAKIURA et al.(42)                        |
| Disaccharide: Saccharose, Maltose                                                                                                                                      |                                             |
| Trisaccharide: A (1 Mol Glucose,<br>2 Mol Fructose), B (3 Mol Glucose),<br>C (1 Mol Maltose, 1 Mol Fructose)                                                           |                                             |
| Polysaccharide                                                                                                                                                         | T.F.SOLOV'EVA et al.(43,<br>44)             |
| Pektin (Galacturonsäure, Galactose,<br>Arabinose)                                                                                                                      |                                             |
| Vitamine<br>B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>12</sub> , C, H, Pantothenensäure,<br>Folsäure, Nicotinsäure                                                      | F.GSTIRNER et al. (40)                      |
| Polyacetylenverbindungen                                                                                                                                               | B.H. HAN et al.(45)                         |
| Anorganische Substanzen<br>Mangan, Vanadin, Kupfer, Kobalt, Arsen                                                                                                      | J.PIJCK et al. (46)                         |

### 3. Chemie der Inhaltsstoffe

Neben den Saponinen (Ginsenoside Ro bis Rh<sub>1</sub>), die vermutlich die Hauptinhaltsstoffe darstellen, wurden in *Panax ginseng* eine Reihe weiterer, ziemlich ubiquitär vorkommenden Inhaltsstoffe gefunden, die in Tabelle 3, S. 6, aufgeführt sind.

Bei dem Ginsenosid Ro, einem pentazyklischen Triterpensaponin, handelt es sich um ein saures bisdesmosidisches Saponin des  $\beta$ -Amyrintyps. Das Aglykon ist die Oleanolsäure. Die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc und Rd dagegen leiten sich von dem tetrazyklischen Dammar-24-en-3,12,20-di-ol, dem 20 S-Protopanaxadiol, ab (1,4). Die restlichen sechs Ginsenoside Re, Rf, 20-Glucoginsenosid Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> und Rh<sub>1</sub> liefern bei schonender Hydrolyse das 20 S-Protopanaxatriol, das sich vom 20 S-Protopanaxadiol durch eine zusätzliche OH-Gruppe in C-6-Stellung unterscheidet (2,3,4,5). Bei saurer Hydrolyse gehen beide Sapogenine leicht unter Ringschluß der Seitenkette in die epimeren Artefakte Panaxadiol bzw. -triol mit einer 20 R-Konfiguration über (47).

Die Vielzahl der Verbindungen ergibt sich aus der unterschiedlichen Zahl, Art und Verknüpfungsweise der Zucker, bzw. ihrer Anknüpfungsstelle an das Triterpengerüst. Der in den Saponinverbindungen am meisten vertretene Zucker ist die D-Glucose. Daneben sind auch L-Rhamnose und L-Arabinose, sowie Xylose und Glucuronsäure vertreten. Die einzelnen Saponine der Protopanaxadiolgruppe unterscheiden sich voneinander nur in der Art der terminalen Zucker im Disaccharidanteil, der an die C<sub>20</sub>-OH-Gruppe gebunden ist. Der reduzierende Teil der Disaccharide, die an die C<sub>3</sub>-OH-Gruppe gebunden sind, ist immer die Glucose. Bei dem einzelnen Zucker, der direkt an die C<sub>6</sub>-OH bzw. C<sub>20</sub>-OH-Gruppe gebunden ist, handelt es sich ebenfalls immer um die Glucose. In der Protopanaxatriolgruppe sind auffallenderweise alle Zucker nur an die C<sub>6</sub> und C<sub>20</sub>-OH-Gruppe geknüpft. Es unterscheiden sich die Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re und 20-Glucoginsenosid Rf unter anderem durch eine zusätzliche Glucose am C<sub>20</sub>-OH von den Ginsenosiden Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> und Rf, von denen das Ginsenosid Rg<sub>2</sub> wiederum durch eine zusätzliche  $\alpha$ -ständige Rhamnose im Disaccharid-Anteil

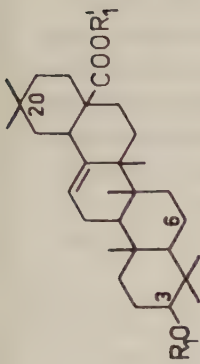
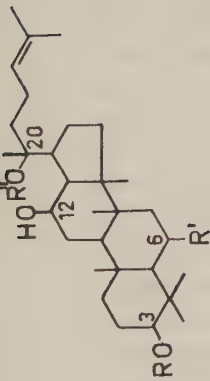
charakterisiert ist. Der Unterschied von Ginsenosid Re zu 20-Glucoginsenosid Rf besteht in einem anderen terminalen Zucker (Rhamnose bzw. Glucose) im Disaccharid an der C<sub>6</sub>-OH-Gruppe (Abb. 1, S. 9).

Die von KIM und STABA (48) sowie ELYAKOV (49) beschriebenen Ginseng-Glykoside besitzen andere Bezeichnungen, haben sich aber durch Vergleich mit den Ginsenosiden der japanischen Forschergruppe als hiermit identisch erwiesen. In Tabelle 4 sind die Ginseng-Glykoside zusammen mit den von diesen Forschergruppen gegebenen Bezeichnungen aufgeführt.

T a b e l l e 4

Triterpenglykoside aus Ginseng (nach Autoren genannt)

| Ginsenoside<br>SHIBATA et al.     | Ginsenoside<br>KIM und STABA      | Panaxoside<br>ELYAKOV et al. |
|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| Ro                                | -                                 | -                            |
| Ra                                | Ra                                | F                            |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | E                            |
| Rc                                | Rc                                | D                            |
| Rd                                | Rd                                | -                            |
| Rd                                | Re <sub>2</sub>                   | C                            |
| Re                                | Re <sub>3</sub>                   | B                            |
| Rf                                | Rf                                | -                            |
| Rg <sub>1</sub>                   | Rg <sub>1</sub>                   | A                            |



|                                 | R                    | R'                   | R''                   |              |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|--------------|
| 20 S-Protopanaxadiol (Aglykon)  | H                    | H                    | H                     |              |
| Ginsenosid Rb <sub>1</sub>      | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ |                      | β-D-Gl 1→6 β-D-Gl 1→  | 1→ β-D-Gl 1→ |
| Ginsenosid Rb <sub>2</sub>      | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ |                      | α-L-Ar 1→6 β-D-Gl 1→  | 1→ β-D-Gl 1→ |
| Ginsenosid Rb <sub>3</sub>      | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ |                      | β-D-Xy 1→6 β-D-Gl 1→  | 1→ β-D-Gl 1→ |
| Ginsenosid Rc                   | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ |                      | α-L-Arf 1→6 β-D-Gl 1→ | 1→ β-D-Gl 1→ |
| Ginsenosid Rd                   | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ |                      |                       |              |
| 20 S-Protopanaxatriol (Aglykon) | H                    | OH                   | H                     |              |
| Ginsenosid Re                   | H                    | α-L-Rh 1→2 β-D-Gl 1→ | β-D-Gl 1→             | 1→           |
| Ginsenosid Rf                   | H                    | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ | H                     |              |
| 20-Glucoginsenosid Rf           | H                    | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ | β-D-Gl 1→             | 1→           |
| Ginsenosid Rg <sub>1</sub>      | H                    | β-D-Gl 1→            | β-D-Gl 1→             | 1→           |
| Ginsenosid Rg <sub>2</sub>      | H                    | α-L-Rh 1→2 β-D-Gl 1→ | H                     |              |
| Ginsenosid Rh <sub>1</sub>      | H                    | β-D-Gl 1→            | H                     |              |
|                                 | R <sub>1</sub>       | R' <sub>1</sub>      |                       |              |
| Oleanolsäure (Aglykon)          | H                    | H                    |                       |              |
| Ginsenosid Ro                   | β-D-Gl 1→2 β-D-Gl 1→ | β-D-Gl 1→            |                       |              |

Abb. 1 : Panax ginseng C.A.Meyer, Ginsenoside aus der Wurzel

**Zeichenerklärung:** Gl = Glucopyranosyl, Ar = Arabinopyranosyl, Arf = Arabinofuranosyl,  
 Xy = Xylopyranosyl, Rh = Rhamnopyranosyl, Glr = Glucopyranuronyl

#### 4. Botanik und Handelsdrogen

---

Der nach 5 - 7 Jahren geerntete unterirdische Teil von *Panax ginseng* C.A.MEYER besteht aus einer rübenförmigen, gelbbraunen Pfahlwurzel und zahlreichen Faden- und Seitenwurzeln. Die Pfahlwurzel ergibt die offizinelle Handelsdroge, während die Seitenwurzel als "billige" Droge in den Handel kommt. Auf die unterschiedlichen Ginsenosidgehalte wird später näher eingegangen (Abb. 2).



Abb. 2

*Panax ginseng* C.A.MEYER, Ganz- und Wurzeldroge

Neben dem Alterskriterium wird im Drogenhandel zwischen einer weißen und roten Ginseng-Ware unterschieden. Der weiße Ginseng wird direkt durch Lufttrocknung der geernteten Droge erhalten. Die Farbe dieser Ginseng-Wurzel ist gelblich-weiß, die Bruchfläche ebenfalls weiß und mehlig. Die sog. rote Ginseng-Droge erhält man durch Behandlung der geernteten Wurzel mit heißem Wasserdampf. Dadurch bekommt sie ein rötliches, glasiges Aussehen von harter Beschaffenheit mit einer hornartigen Bruchfläche. Beide Wurzelarten lassen sich dünnschichtchromatographisch voneinander unterscheiden.

## 5. Ersatzdrogen und Verfälschungen

Da Ginsenoside neuerdings auch in anderen Panax-Arten nachgewiesen wurden (50-59), gelten sie z.T. als Ersatzdrogen (Abb. 3, S. 13). Auch die Wurzel von *Eleutherococcus* wird gelegentlich, obwohl ginsenosidfrei, als Ersatzdroge beschrieben.

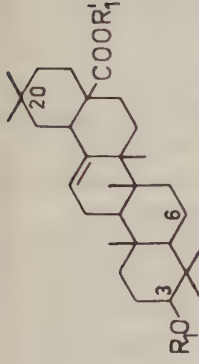
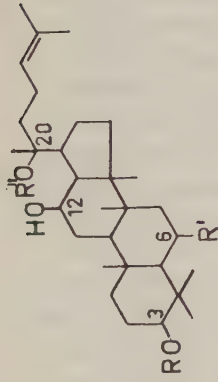
5.1. In Japan wächst neben der offizinellen Ginseng-Pflanze noch Panax japonicus C.A.MEYER. Diese Pflanze ist auch unter dem Namen Chikusetsuninjin bekannt (59). Sie scheint außerdem ein Synonym für *Panax repens* MAXIM. zu sein (38). Der nordamerikanische und kanadische Ginseng stammt von Panax quinquefolius L.. Die Droge wird als "Kanton-Ginseng" gehandelt. *Panax Sanchi* HOO, identisch mit Panax pseudoginseng subsp. *himalaicus* WALL., wird ebenfalls in Japan kultiviert und erscheint auf dem Hongkong-Markt. Einige weitere Panax-Arten, die vor allem in Australien und Indien heimisch sind, haben als Drogen bisher wenig Bedeutung gefunden (16). Über die Chemie der Saponine dieser Drogen gibt die Abb. 3, S. 13, eine Übersicht. *Eleutherococcus senticosus* MAXIM., ebenfalls zur Araliaceen-Familie gehörig, ist im östlichen Teil der UDSSR, besonders in Sibirien, als wildwachsender Strauch verbreitet. Diese Pflanze wächst auch in Korea und einigen Provinzen Chinas (Shansi, Hopei) (7). Eine Zusammenstellung der in dieser Droge bisher gefundenen Inhaltsstoffe wird auf S. 71 gegeben.

5.2. Obgleich einigen der in Tabelle 5 aufgeführten Drogen eine ginsengähnliche Wirkung nachgesagt wird (8), müssen diese, da frei von Ginsenosiden, als Verfälschungen angesehen werden.

T a b e l l e 5

Drogen, die als Verfälschung für Panax ginseng gelten (13,60)

| Stammpflanze                              | Familie       | Inhaltsstoffe                        |
|-------------------------------------------|---------------|--------------------------------------|
| Platycodon grandiflorum<br>Jacq.          | Campanulaceae | Saponine                             |
| Codonopsis grandiflorum<br>Benth. et Hook | Campanulaceae | Saponine, Alka-<br>loide, Flavonoide |
| Phytheuma japonicum Miq.                  | Campanulaceae |                                      |
| Gynura pinnatifida C.D.                   | Asteraceae    |                                      |



|                                 | R               | R'                | R''               |                                 |
|---------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|
| Chikusetsusap. I (Pj)           | H               | $\alpha$ -L-Rh    | 1 $\rightarrow$ 2 | $\beta$ -D-Gl 1 $\rightarrow$ 0 |
| Ginsenoid Rg <sub>2</sub>       |                 |                   |                   |                                 |
| Chikusetsusap. Ia (Pj)          | $\beta$ -D-Xy   | 1 $\rightarrow$ 6 | $\beta$ -D-Gl     | 1 $\rightarrow$                 |
| Chikusetsusap. III (Pj)         | $\beta$ -D-Gl   | 1 $\rightarrow$ 2 | $\beta$ -D-Xy     | 1 $\rightarrow$ 6               |
| Chikusetsusap. IVc (Pj)         |                 |                   |                   |                                 |
| Ginsenoid Re (Pg)               | H               |                   |                   |                                 |
| Panaquillin E-2, E-3 (Pq)       |                 |                   |                   |                                 |
| Saponin D (Pp)                  | $\beta$ -D-Gl   | 1 $\rightarrow$ 2 | $\beta$ -D-Gl     | 1 $\rightarrow$                 |
| Ginsenoid Rb <sub>1</sub> (Pg)  |                 |                   |                   |                                 |
| Panaquillin B <sub>1</sub> (Pq) |                 |                   |                   |                                 |
|                                 | R <sub>1</sub>  |                   | R' 1              |                                 |
| Chikusetsusap. Ib (Pj)          | $\beta$ -D-Gl   | 1 $\rightarrow$ 6 | $\alpha$ -L-Arf   | 1 $\rightarrow$ 4               |
| Chikusetsusap. II (Pj)          | $\beta$ -D-Gl   | 1 $\rightarrow$ 6 | $\beta$ -D-Glr    | 1 $\rightarrow$                 |
| Chikusetsusap. IV (Pj)          | $\alpha$ -L-Arf | 1 $\rightarrow$ 4 | $\beta$ -D-Glr    | 1 $\rightarrow$                 |
| Saponin B (Pp)                  |                 |                   |                   |                                 |
| Chikusetsusap. IVa (Pj)         | $\beta$ -D-Glr  | 1 $\rightarrow$   |                   |                                 |
| Saponin C (Pp)                  |                 |                   |                   |                                 |
| Chikusetsusap. V (Pj)           |                 |                   |                   |                                 |
| Ginsenoid Ro (Pg)               | $\beta$ -D-Gl   | 1 $\rightarrow$ 2 | $\beta$ -D-Glr    | 1 $\rightarrow$                 |
| Saponin A (Pp)                  |                 |                   |                   |                                 |

Abb. 3 : Saponine aus Wurzeln verschiedener Panax-Arten (50-59)

Zeichenerklärung: Gl = Glucopyranosyl, Rh = Rhamnopyranosyl, Xy = Xylopyranosyl, Arf = Arabinofuranosyl, Glr = Glucopyranuronyl; (Pj) = Panax japonicus, (Pp) = Panax pseudoginseng, ssp. himalaicus, (Pg) = Panax ginseng, (Pq) = Panax quinquefolius

## 6. Bisherige quantitative Bestimmungsmethoden für Saponine

Die bis heute vorgeschlagenen Methoden zur Gehaltsbestimmung von Saponindrogen und Saponinen stellen zum größten Teil Konventionsmethoden dar. Sie genügen in den meisten Fällen nicht den Anforderungen einer modernen Analytik. Die von den Arzneibüchern vorgeschriebenen biologischen Verfahren mit Hilfe der Hämolyse sind wenig aussagekräftig, da 1. zahlreiche Saponine, wie z.B. einige der Ginseng-Saponine, nur geringe oder keine Hämolysewirkung zeigen, 2. der Mechanismus der Hämolyse noch weitgehend unbekannt ist und 3. die Bestimmung des hämolytischen Index stark von den Versuchsbedingungen (Blutart, pH-Konzentration, Standard-Saponin usw.) abhängig ist. In den wenigsten Fällen besteht eine Korrelation zwischen dem hämolytischen Index einer Saponindroge bzw. ihren Saponinen und der therapeutischen Wirkung. Die bisher ausgearbeiteten chemischen Bestimmungsmethoden beziehen sich wegen der chemischen Verschiedenartigkeit der Saponine meistens auf nur einen bestimmten Saponintyp oder eine Droge. Mit Ausnahme der Cholesterinfällungsmethode (61) und einer photometrischen Gesamtbestimmung, die auf der Adsorption von Methylviolett an die Saponine, nachfolgender Verteilung in einem Wasser-Chloroform-System und Photometrie der gefärbten Chloroformlösung beruht (62), werden nach den meisten Verfahren die Saponine vor der Umsetzung mit Reagenzien bzw. Messung, chromatographisch abgetrennt. Dort, wo nur ein Saponintyp oder ein Hauptsaponin vorliegt, erfolgt die Bestimmung in der Regel erst nach der Hydrolyse und der Abtrennung des Aglykons. In der Tabelle 6 sind die wichtigsten, bisher angewendeten Bestimmungsmethoden für Saponindrogen, mit Ausnahme der Ginsengdroge, zusammengestellt.

Die Bestimmungsmethoden sind wegen der chemischen Komplexität der zu bestimmenden Saponingemische und der Schwierigkeit, geeignete Bezugssubstanzen zu finden, mit großen Fehlern behaftet. Außerdem sind die meisten angewendeten Reagenzien nicht spezifisch genug. Bei der Hydrolyse der Saponine treten nicht selten strukturelle Veränderungen, bzw. Artefakte, auf. Bei der Bestimmung des Gesamtsaponingemisches wird zudem der pharmakologischen Individualität der einzelnen Saponine des Gemisches nicht Rechnung getragen.

T a b e l l e 6

Bestimmungsmethoden für Saponine und Saponindrogen

| Bestimmungsmethode/Reagenz                                                                       | max (nm) | Droge/Saponin                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|------------------------------------------|
| UV                                                                                               | 251      | Glycyrrhetinsäure (63)                   |
| UV                                                                                               | 243      | Primulasapogenin (64)                    |
| UV/95% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                            | 324/318  | Quillajae Cortex und Primulae Radix (65) |
| UV/95% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                            | 324/318  | Herniariae Herba und Hederae Herba (66)  |
| UV/Eisen(III)-chlorid                                                                            | 540      | Aescin (67)                              |
| UV/Vanillin/HCl + Vanadin/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                         | 530      | Primulasaponin (68)                      |
| UV/Liebermann-Burchard                                                                           | 529      | Glycyrrhizae Radix (69)                  |
| UV/p-Nitrophenylacetyl bromid, DMSO + Diäthylamin, oder Dibenzo(18)-Krone-6 äther in Acetonitril | 550      | Senegae Radix, bzw. Tenuifolin (70)      |
| HPLC                                                                                             | 248      | Glycyrrhizinsäure (71)                   |
| DC-Densitometrie/Cer(IV)-sulfat/10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                               | 260-300  | Glycyrrhizinsäure (72)                   |
| GC                                                                                               |          | Glycyrrhizinsäure (73)                   |

## 7. Bisher durchgeführte quantitative Methoden für die Ginsengdroge

Obwohl die Ginsenoside Ro, Rf und Rg eine unterschiedlich starke hämolytische Wirksamkeit besitzen (74), zeigt der Ginseng-Extrakt keine Hämolysewirkung. Dieses Phänomen wird mit einer die Hämolyse inhibierenden Wirkung der 20 S-Protopanaxadiol-Ginsenoside erklärt. Eine biologische Gehaltsbestimmung der Droge bzw. eines Gesamtextraktes über den H.I. kommt daher für die Ginsengdroge nicht in Betracht.

### 7.1. Photometrie

Von HIAI und Mitarb. (75,76,77) wurde daher erstmals eine spektrophotometrische Methode für Panaxadiol und Ginseng-Saponinfraktionen vorgeschlagen. Die Umsetzung erfolgte mit Vanillin/Schwefelsäure, wobei gezeigt wurde, daß das Absorp-

tionsmaximum (544 nm) der Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rd mit dem des Panaxadiols übereinstimmt und auch Ginsenosid Rg<sub>1</sub> ebenso wie Panaxatriol bei 542 nm gemessen werden können.

## 7.2. Gaschromatographie

Die von BOMBARDELLI und Mitarb. (78) durchgeführten GC-Untersuchungen veranlaßten BRIESKORN und MOSANDL (79) diese Methode für eine quantitative Bestimmung zu verwenden. Sie bestimmten die bei der sauren Hydrolyse von Extrakten als Artefakte gebildeten Aglykone Panaxadiol und Panaxatriol über ihre Silylierungsprodukte. Die erhaltenen Werte der Aglykone wurden auf die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Re umgerechnet. Als Standard diente Cholesterol.

Diese GC-Methode birgt verschiedene Fehlerquellen. Da die Hydrolyse nicht völlig quantitativ verläuft, werden die Ginseng-Aglykone nicht vollständig erfaßt. Außerdem können unvollständige Umsetzungen und Strukturveränderungen, z.B. bei der Silylierung, nicht ganz ausgeschlossen werden. Eine weitere Fehlerquelle ist der Umrechnungsmodus auf den Ginsenosidgesamtgehalt. Da sich die Ginsenoside z.T. sehr erheblich im Zuckergehalt und damit im Molgewicht unterscheiden, ergeben von vornherein alle Umrechnungen mit Hilfe von Faktoren nicht den wahren Saponingehalt. Hinzu kommt, daß mit dieser Methode auch andere in der Droge vorkommende Inhaltsstoffe, wie z.B. Steroide, erfaßt werden. Die gefundenen Werte sind deshalb immer überhöht. Die Bestimmung der beiden Sapogenine ist vor allem auch deshalb ungenügend, weil den Ginsenosiden sehr verschiedenartige Wirkungen zukommen. Es ist daher wenig sinnvoll, nur den Gesamtgehalt an Ginsenosiden anzugeben.

## 8. Neue Methode zur Bestimmung der Ginsenoside durch Fluoreszenz-Spektrophotometrie nach DC-Trennung

Wenn die DC-Auftrennung eines Substanzgemisches ohne Überlappung erreichbar ist, können die aufgetrennten Verbindungen nach Elution von der DC-Platte oder direkt auf der DC-Platte bestimmt werden. Die DC-Direktbestimmung setzt voraus, daß die auf der DC-Platte adsorbierten Verbindungen detektierbar sind und daß die Trennfaktoren nicht zu klein sind, damit Ortskurven möglichst die Basislinie erreichen. Bei der quantitativen DC-Direktauswertung ergeben sich mehrere Meßanordnungen, die in der nachfolgenden Abbildung 4 aufgezeigt sind.

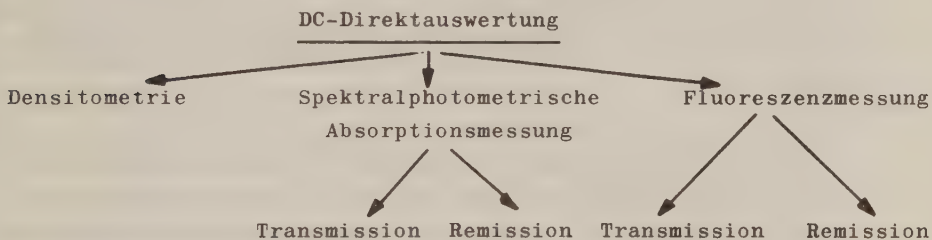


Abb. 4

Meßanordnungen für die DC-Direktauswertung

In den letzten Jahren ist die DC-Direktauswertung bei vielen Naturstoffen angewandt worden (80). Dabei hat sich eine Überlegenheit der Fluoreszenzmessung gegenüber der Absorptionsmessung hinsichtlich der Genauigkeit und Empfindlichkeit ergeben (81). Man stellte fest, daß bei Messung in Transmissionsanordnung die Inhomogenität von Sorbens- und Trägermaterial (z.B. Glas) für eine unregelmäßige Basislinie verantwortlich ist und daher Meßwertschwankungen erzeugt. Deshalb ist in jedem Fall eine Remissionsanordnung einer Transmissionsanord-

nung vorzuziehen. In der Fluoreszenzmessung ist eine Remissionsanordnung unbedingt erforderlich, da das Trägermaterial in hohem Maß UV-Licht absorbiert und damit die Messung verfälschen würde.

Von JOLLIFFE und SHELLARD (82) wurde auf einem Vortrag auch auf die Möglichkeit der DC-Direktauswertung von Ginseng-Saponinen hingewiesen. Die dort vorgestellten Ergebnisse beziehen sich aber nur auf die reinen Ginsenoside bzw. Saponinfraktionen, ohne daß Angaben über die prozentuale Zusammensetzung bestimmter Gemische gemacht wurden.

Die vorliegende Arbeit stellt ein DC-fluorometrisches Verfahren vor, das aus den oben genannten Gründen die quantitative Bestimmung in Remission durchführt und zur Routinebestimmung der Ginsenoside in Wurzeldroge und Ginseng-Spezialitäten geeignet ist (83).

#### 8.1. Wahl von Adsorbens, Laufmittelgemisch und Detektionsmittel

Für die Auftrennung der Ginsenoside aus dem Extrakt und den Zubereitungen war auf Grund von Vergleichsuntersuchungen die DC-Fertigplatte Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.25 mm, der Firma Merck am besten geeignet. Die Verwendung von HPTLC-Kieselgelplatten brachte für die Bestimmungsmethode keinen wesentlichen Vorteil. Es zeigte sich, daß eine sehr geringe Auftragekonzentration (< 5 ng) vom Fluoreszenz-Spektrophotometer nicht mehr erfaßt wurde und höhere Konzentrationen schnell zu einer Überladung der HPTLC-Platte führten.

Als Laufmittelgemisch (LM I), das die besten Trenneigenschaften zeigte, bewährte sich das bereits von SHIBATA und Mitarb. (1) vorgeschlagene System n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5 Vol., Oberphase). Die optimale Entwicklungstrecke betrug 12 cm. Trotzdem mußte hier in Kauf genommen werden, daß die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub>, ebenso wie die Ginsenoside Rg<sub>1</sub> und Rg<sub>2</sub> hierin nicht trennbar waren. Auch das bisher nicht zuzuordnende Ginsenosid Ra liegt unterhalb der Ginsenoside Rb<sub>1</sub>,

Rb<sub>2</sub> auf Höhe von Saponin RX und kann nicht getrennt nachgewiesen werden. Diese Nachteile konnten durch ein 2. Laufmittelgemisch (LM II) Chloroform-Methanol-Wasser (64:36:8) kompensiert werden. In diesem gelang zwar eine Auftrennung, der Trennfaktor für viele Ginsenoside war jedoch auch bei einer Entwicklungsstrecke von 15 cm nicht sehr groß, so daß eine Reihe von Substanzpeaks nicht die Grundlinie erreichten und vorwiegend Schultern bei der Aufzeichnung bildeten. Eine Verbesserung brachte die Kombination von LM I und LM II in zweidimensionaler Anordnung. Dieses zwar aufwendigere Verfahren bewährte sich vor allem zur Auftrennung von Ginsenosiden in Fertigpräparaten.

Wie allgemein bekannt, wird das Trennverhalten der zu untersuchenden Substanzgemische deutlich von der Dauer der vorher durchgeführten Kammersättigung beeinflusst. Wir fanden jedoch, daß sich die Ginsenoside am besten trennen ließen, wenn ohne jede Kammersättigung (bei 20°C Raumtemperatur) gearbeitet wurde, wie die Abb. 5, S. 20, zeigt. Die R<sub>f</sub>-Werte verringerten sich beim Entwickeln mit längerer Kammersättigung. Außerdem zeigte die Kieselgelschicht der DC-Platte, die im gesättigten Laufmittel entwickelt wurde, nach der Detektion eine bräunliche Verfärbung. Durch den dunklen Untergrund wurde die Messung beeinträchtigt und eine unregelmäßige Grundlinie bei der Aufzeichnung war die Folge.

Da die Ginsenoside keine Eigenfluoreszenz bzw. Fluoreszenzminderung zeigen, müssen sie mit einem Reagenz sichtbar gemacht werden. Von den zahlreichen für Saponine möglichen Detektionsmitteln wurde das Liebermann-Burchard-Reagenz gewählt. Dieses ergab mit den Ginsenosiden der Diol-Reihe nach dem Erhitzen eine orange-rosa, mit denen der Triol-Reihe eine violett-rosa Fluoreszenz. Das herkömmliche Verfahren, die DC-Platte zur Detektion mit dem Reagenz zu besprühen, ergab im UV 254 nm eine ungleichmäßige Absorption der fluoreszierenden Kieselgelschicht. Z.B. konnte die Fluoreszenz eines Fleckes durch stärkeres Besprühen intensiviert werden. Dieser Effekt ließ sich auch durch Messungen von Flecken gleicher

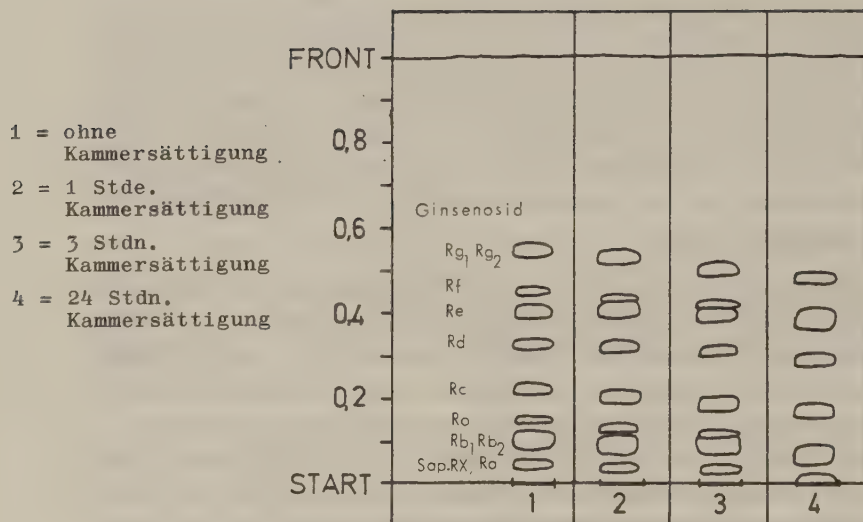


Abb. 5

Einfluß der Kammersättigung auf das Trennverhalten der Ginsenoside

LM: n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5)

Det.: Liebermann-Burchard-Reagenz

Konzentration beweisen. Diese unterschiedlich starke Fluoreszenz wirkte sich selbstverständlich auf die Standardabweichung und die Regressionsgerade aus, verschlechterte also die statistischen Meßergebnisse. Speziell für die fluorometrische Bestimmung war nachteilig, daß vom Plattenuntergrund keine gute Basislinie aufgezeichnet werden konnte. Wir versuchten daher diese Unregelmäßigkeit durch die sog. "Eintauchmethode" zu beseitigen. Zu diesem Zweck mischten wir die Liebermann-Burchard-Reagenzlösung mit Chloroform im Verhältnis 1:1. Bei der Verwendung von Chloroform bestand nicht die Gefahr, daß die Ginsenosidflecke aus dem Adsorbens eluiert wurden oder sich durch Diffusion vergrößerten. Auch war durch das schnelle Abdunsten von Chloroform eine rasche Weiterbehandlung der DC-Platte möglich. Wir tauchten in diese Reagenzlösung die DC-Platte bis über die Laufmittelfront hinaus einmal kurz ein. Nachdem das Lösungsmittel verdunstet war, ergab die DC-Schicht für das eingestrahlte UV-Licht eine gleichmäßige Fluoreszenzminderung. Wie die späteren Messungen zeigten, hatte die Basislinie einen geradlinigen Verlauf. Die Werte genügten den statistischen Anforderungen.

## 8.2. Fluoreszenzmeßanordnung und apparative Angaben

Zur Fluoreszenzmessung verwendeten wir das Fluoreszenz-Spektrophotometer, Modell MPF-3 der Firma Perkin-Elmer. Wir wählten die Messung in Remissionsanordnung und zeichneten die Kurven mit dem QPD-33 Recorder auf. In Testmessungen wurden die optimalen Versuchsbedingungen ermittelt. Gut aufgezeichnete Peaks erhielten wir bei einer Bandbreite von 8 nm. Je näher die Substanzflecke auf der DC-Platte beieinanderliegen, umso kleiner muß die Bandbreite eingestellt werden. Bei dieser Einstellung erreicht der Schreiber zwischen zwei Peaks die Basislinie. Bei einer kleineren Bandbreite als 5 nm ist die auf den DC-Fleck fallende Lichtintensität zu gering und der aufgezeichnete Peak wegen zu geringer Höhe nicht mehr gut auswertbar. Hier kann aber mit einer höheren Empfindlichkeit die Peakhöhe vergrößert werden. Wird die Basislinie unregelmäßig, ist die maximale Empfindlichkeit erreicht. Mit

der Spaltbreite der Blende ist die Peakhöhe, wie bei der Bandbreite, regulierbar.

Zur quantitativen Fluoreszenzmessung mußten zuerst die Exzitations- und Emissionsmaxima der Ginsenoside ermittelt werden. Hierfür wurden die reinen Ginsenoside in gleichen Konzentrationen auf die DC-Platte aufgetragen und chromatographiert. Dabei fiel auf, daß sich die Peakhöhen der verschiedenen Ginsenoside gleicher Auftragekonzentration stark unterschieden (Abb. 6). Daraus war zu folgern, daß die Exzitations- und Emissionsmaxima der einzelnen Ginsenoside verschieden sein mußten. Mit Hilfe der "Punkt-Methode" wurden für die einzelnen Verbindungen folgende Maxima-Werte ermittelt (Tab. 7, S.23). Hierunter versteht man den Unterschied zwischen der Intensität des reinen Trägermaterials auf der DC-Platte und dem zu messenden, fluoreszierenden Flecks eines Ginsenosids auf derselben DC-Platte, wobei der Wellenlängenbereich des Exzitations- bzw. Emissionsmaximums punktweise um 2 nm verändert wird. Das entsprechende Maximum liegt dort, wo der größte Intensitätsunterschied auftritt.

Um die aufgetrennten Ginsenoside in einer Ortskurve dokumentieren zu können, wurde für das Verfahren eine gemeinsame Exzitations- und Emissionswellenlänge gewählt. In orientierenden Vorversuchen erhielten wir bei einer Exzitationswellenlänge von 460 nm und einer Emissionswellenlänge von 520 nm für die Mehrzahl der Ginsenoside die höchste Fluoreszenzintensität. Deshalb wurden diese Wellenlängen, abweichend von den substanzspezifischen Maxima, für die Messung beibehalten.

Fluoreszenzintensität

[cm]

Ginsenoside

Ro Rb<sub>1</sub> Rb<sub>2</sub> Rc Rd Re Rg<sub>1</sub>

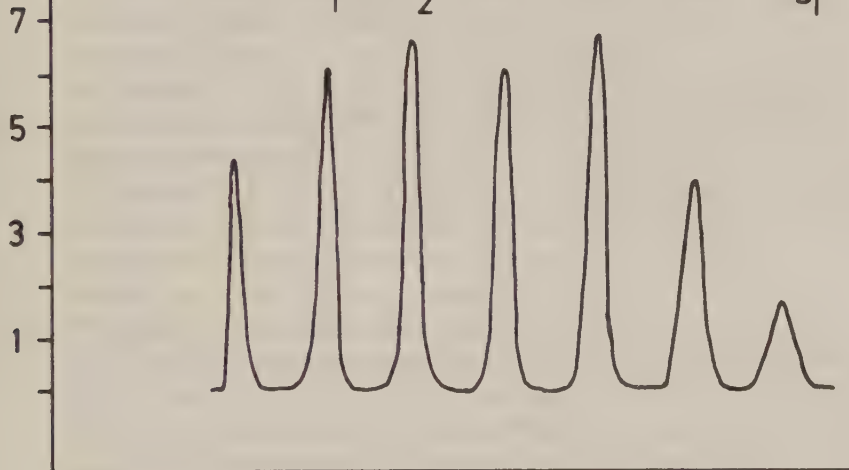


Abb. 6

Die Peakhöhen verschiedener Ginsenoside bei gleicher Konzentration, gemessen in Remission bei 460 nm (Exz.), 520 nm (Em.)

T a b e l l e 7

Fluoreszenz-Maxima der einzelnen Ginsenoside

|                            | Exzitation (nm) | Emission (nm) |
|----------------------------|-----------------|---------------|
| Ginsenosid Ro              | 466             | 536           |
| Ginsenosid Rb <sub>1</sub> | 462             | 546           |
| Ginsenosid Rb <sub>2</sub> | 466             | 544           |
| Ginsenosid Rc              | 464             | 546           |
| Ginsenosid Rd              | 460             | 536           |
| Ginsenosid Re              | 462             | 546           |
| Ginsenosid Rg <sub>1</sub> | 462             | 550           |

Die unterschiedlichen Peakhöhen der einzelnen Ginsenoside bei gleicher Konzentration machten die Berechnung auf ein Ginsenosid und somit die Einführung von Korrekturfaktoren notwendig. Als Bezugssubstanz erschien Ginsenosid Re geeignet, da sein Molekulargewicht (947.2) dem mittleren Molgewicht aller bekannten Ginsenoside am nächsten kommt. Zur Bestimmung der Umrechnungsfaktoren wurden 5 Auftragepunkte (je 2  $\mu$ l = 0.1  $\mu$ g) Ginsenosid Re zusammen mit jeweils einem der Ginsenoside Ro, Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re und Rg<sub>1</sub> (6 x 2  $\mu$ l) in 0.005%iger methanolischer Lösung auf die Kieselgelplatte aufgetragen. Nach dem Entwickeln und Detektieren wurden die Korrekturfaktoren als Quotienten der jeweiligen mittleren Peakhöhen von Ginsenosid Re und Ginsenosid Rx (x = o, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, c, d, e und g<sub>1</sub>) errechnet (Tab. 8). Der Versuch, alle Ginsenoside zusammen auf eine DC-Platte aufzutragen und daraus nach mehreren Probeplatten die Faktoren zu bestimmen, brachte nicht so exakte Ergebnisse. Die Faktoren erwiesen sich nach der erstgenannten Methode sowohl bei niedriger als auch hoher Konzentration als ziemlich konstant. Wie aus der Tabelle 8 hervorgeht, ergaben Ginsenoside mit höheren Molekulargewichten als Ginsenosid Re, mit Ausnahme von Ginsenosid Rd, geringere, die Ginsenoside mit niedrigerem Molekulargewicht als Ginsenosid Re höhere Werte als 1.0.

T a b e l l e 8

Korrekturfaktoren der Ginsenoside

| Ginsenosid                 | Korrekturfaktor | Molgewicht |
|----------------------------|-----------------|------------|
| Ginsenosid Ro              | 0.93            | 957.12712  |
| Ginsenosid Rb <sub>1</sub> | 0.65            | 1103.7275  |
| Ginsenosid Rb <sub>2</sub> | 0.60            | 1079.2924  |
| Ginsenosid Rc              | 0.65            | 1079.2924  |
| Ginsenosid Rd              | 0.60            | 947.17554  |
| Ginsenosid Re              | 1.00            | 947.17554  |
| Ginsenosid Rg <sub>1</sub> | 2.30            | 801.03164  |

Die bei Ginsenosid Rd beobachtete Abweichung im Maximum zeigt, daß die unterschiedlichen Korrekturfaktoren nicht nur vom Molekulargewicht der Verbindungen abhängen. Bei der Reaktion mit dem Detektionsreagenz entsteht in dem Aglykon durch Dehydratisierung ein konjugiertes System, dessen Länge von Zahl und Stellung der OH-Gruppen abhängig ist. Vermutlich zeigen auch die einzelnen Zucker bei der Umsetzung zu den 5-Methoxyfurfuralen unterschiedliche Reaktionsweisen. Durch diese bei den einzelnen Ginsenosiden etwas verschieden ablaufenden Reaktionen kann es daher zu einer Verschiebung des Maximums kommen. Diese Abweichung muß naturgemäß zu einer individuellen Erhöhung oder Erniedrigung der Extinktion führen. Die Verwendung von Korrekturfaktoren ist aber auch notwendig, weil alle Ginsenoside in einem gemeinsamen Exzitations- bzw. Emissionsmaximum gemessen werden müssen.

### 8.3. Auswertung der Ortskurven

Um die aufgezeichneten Ortskurven auswerten zu können, bedient man sich überwiegend der Peakflächenmessung. Der Integrator, der dem Analysensystem angeschlossen ist, berechnet die Meßwerte auf die Basislinie. Wird die Auswertung über die Ortskurven des Schreibers vorgenommen bzw. ein Peak manuell ausgemessen, ist es zweckmäßig, die Peakhöhenmessung anzuwenden. Bei einer Peakflächenmessung kann die Berechnung aus Peakhöhe  $\times$  Halbwertsbreite zu großen Fehlern und damit zu Meßwertverfälschungen führen (84). Da für die Messungen kein Integrator zur Verfügung stand und manuell ausgewertet werden mußte, ist in diesem Fall die Peakhöhenmessung die optimale Methode.

### 8.4. Genauigkeit der Auftrageweise und des Meßverfahrens

Die Genauigkeit der DC-Direktauswertung ist von der Präzision der Auftrageweise und des Meßverfahrens abhängig. Man überprüft die Meßergebnisse durch statistische Methoden (85,86).

Um die Präzision der Peakhöhenmessung zu überprüfen, wurde ein Ginsenosid Re - DC-Fleck ( $2 \mu\text{l} = 0.1 \mu\text{g}$ ) 10mal mit auto-

matischem Plattenvorschub in Vorwärtsrichtung gemessen und die aufgezeichnete Peakhöhe ausgewertet. Dabei wurden folgende Werte erhalten:

$$\bar{x} = 1.505, s = 0.04378, s_s = 0.00979, v = \pm 2.91\%, \\ s_v = \pm 0.04\%$$

Genauere Ergebnisse brachte die Messung, wenn der Fleck jedesmal neu einjustiert wurde, wie aus folgenden Werten ersichtlich ist:

$$\bar{x} = 1.51, s = 0.03162, s_s = 0.00707, v = \pm 2.09\%, \\ s_v = \pm 0.02\%$$

Die erhaltenen Variabilitätskoeffizienten ( $v$ ) von  $\pm 2.91\%$  und  $\pm 2.09\%$  ließen für die Meßmethode reproduzierbare Werte erwarten.

Um die Fehlergröße bei der Applikation zu ermitteln, wurde eine Standardlösung von Ginsenosid Re ( $10 \times$  je  $2 \mu\text{l} = 0.1 \mu\text{g}$ ) mit einer Mikroliterspritze über eine Strecke von  $0.3 \text{ cm}$  auf die DC-Platte appliziert und nach dem Entwickeln und Detektieren gemessen. Durch Ausrechnen der Peakhöhen ergaben sich folgende Werte:  $\bar{x} = 1.5$ ,  $s = 0.07619$ ,  $s_s = 0.01704$ ,  $v = \pm 5.06\%$ ,  $s_v = \pm 0.12\%$ . Daraus ergibt sich, daß das Auftragen gleicher Mengen an Substanzlösungen einen größeren Fehler beinhaltet, als bei Applikation verschiedener Auftragemengen. Im letzten Fall wird dieser offensichtlich kompensiert. Der Variabilitätskoeffizient von  $5.06\%$  ist aber nicht übermäßig hoch, so daß diese Methode angewendet werden kann.

---

$\bar{x}$  = Mittelwert,  $s$  = Standardabweichung,  $s_s$  = mittlerer Fehler für die Standardabweichung,  $v$  = Variabilitätskoeffizient,  $s_v$  = mittlerer Fehler für den Variabilitätskoeffizienten

#### 8.5. Proportionalität von Saponinkonzentration und Fluoreszenzintensität

Untersuchungen über die Proportionalität von Saponinkonzentration zu Fluoreszenz ergaben, daß der verwendbare Konzentrationsbereich der Ginsenoside bei dem gewählten Detektionsverfahren nicht besonders groß ist. Dies beruht auf der schwachen Fluoreszenzintensität der mit Liebermann-Burchard-Reagenz detektierten Ginsenoside. Bei geringeren Konzentrationen als 5 ng reicht die apparative Empfindlichkeit nicht aus, um die schwache Fluoreszenz noch zu erfassen, wie bei der Verwendung der HPTLC-Platte bereits festgestellt wurde. Wird die Konzentration des Fleckes zu groß, entsteht ein dunkler Fleckmittelpunkt, wodurch die Fluoreszenz im Fleckmittelpunkt abnimmt und bei der Peakaufzeichnung eine Aufspaltung des ursprünglichen Maximums in zwei Maxima erhalten wird. Die Nachweisempfindlichkeit der detektierten Ginsenoside war durch kein anderes Reagenz zu verbessern.

Für das Ginsenosid Re als Referenzsubstanz konnten wir einen optimalen Konzentrationsbereich von 0.075 µg bis 0.250 µg festlegen. Der zur Messung vorbereitete Ginseng-Auszug muß daher mit einer Testplatte vorgeprüft werden. Die höchste Auftragemenge sollte so gewählt werden, daß die Peakhöhe des Ginsenosid Re - DC-Fleckes innerhalb dieses angegebenen Konzentrationsbereiches liegt.

Da die Fluoreszenzmessung adsorbierter Stoffe, ebenso wie die von gelösten Verbindungen, dem Lambert-Beerschen Gesetz folgen, kann man eine Linearität zwischen der Konzentration und der Peakhöhe in diesem Konzentrationsbereich erwarten. Geringere Konzentrationen als 0.075 µg wurden zwar noch erfaßt, doch waren die ermittelten Meßwerte etwas überhöht.

#### 8.6. Fluoreszenzverhalten in Abhängigkeit von der Zeit

---

Zur Untersuchung des Fluoreszenzverhaltens der detektierten Ginsenosidflecke wurden diese einzeln innerhalb 3 Stdn. kontinuierlich mit dem automatischen Plattenvorschub (Dauer eines Meßvorgangs = 2 1/2 Min.) gemessen. Anschließend wurde der Meßvorgang nur noch jede Stunde wiederholt. Die letzten Messungen erfolgten 6 und 24 Stdn. nach der Detektion. Sie ergaben, daß die Fluoreszenzintensität nach dem Trocknen der DC-Platte zunächst ansteigt und dann auf einen Wert absinkt, der dann längere Zeit konstant bleibt. Daraufhin nimmt die Fluoreszenzintensität ständig ab. Da sich die verschiedenen Ginsenosidflecke unterschiedlich verhielten, wurde jener Zeitraum bestimmt, in dem bei allen die Fluoreszenzintensität gleich blieb. Dieser Bereich liegt zwischen 30 und 90 Min. (einschließlich der Trocknungszeit von 10 Min.) nach Detektion der DC-Platte. Es sollte daher 30 Min. nach der Detektion (bzw. dem Tauchvorgang) gemessen werden, da der Meßvorgang mit automatischem Plattenvorschub exakte Werte ergab, wenn die DC-Flecke im UV-Licht langsam gemessen wurden. Da maximal 11 Punkte auf 1 DC-Platte aufgetragen waren, war der Meßvorgang spätestens nach 30 Min. beendet und erlaubte bei Bedarf eine Wiederholung.

#### 8.7. Wiederfindungsrate

---

Auf einer DC-Platte wurde Ginsenosid Re - Standardlösung in einer Konzentrationsreihe (1.5 µl bis 5.0 µl einer 0.005%igen Lösung) neben 3 Startpunkten von 5 µl Ginseng-Extrakt aufgetragen. Auf 2 dieser Ginseng-"Extraktunkte" wurden zusätzlich 2 µl bzw. 3 µl der Ginsenosid Re - Standardlösung (0.1 µg bzw. 0.15 µg) aufgegeben. Nach dem Entwickeln und Detektieren der DC-Platte wurde aus der Konzentrationsreihe und den drei Auftragepunkten des Ginseng-Auszugs der Gehalt ermittelt. Wir fanden bei den Ginseng-Auszügen mit Zusatz von Ginsenosid Re - Standardlösung Abweichungen im Ginsenosid Re - Gehalt von 2.3% bzw. 4.4%. Die Wiederfindungsrate lag somit bei 97.7% bzw. 95.6%.

### 8.8. Ortskurven der Ginsenosid Re - Konzentrationsreihe als Eichgerade und statistische Ergebnisse

In einer Konzentrationsreihe von 0.075  $\mu\text{g}$  bis 0.250  $\mu\text{g}$  (Abb. 7) wurde der Ginsenosid Re - Standard in 7 Startpunkten neben dem zu untersuchenden Ginseng-Extrakt auf derselben DC-Platte zur Aufstellung der Eichgerade verwendet.

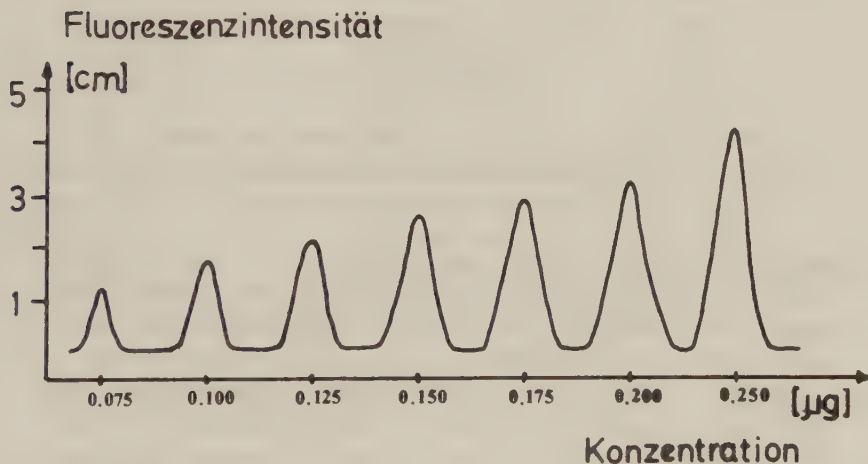


Abb. 7

#### Ortskurven der Ginsenosid Re - Konzentrationsreihe

Die Fluoreszenzintensitäten wurden unter den angegebenen Bedingungen gemessen und die aufgezeichneten Peakhöhen ausgewertet. Die Konzentrationen und Peakhöhen der Ginsenosid Re - Reihe wurden zur Berechnung des Korrelationskoeffizienten und zur Aufstellung der Regressionsgerade in die entsprechenden Formeln eingesetzt (93,94). Aus der resultierenden Gleichung  $y = k + bx$  ermittelte man durch Einsetzen der Auftragemengen ( $= x$ ) den Verlauf der Regressionsgerade (Tab. 9 / Abb. 8, S. 31).

Nach dem errechneten Korrelationswert ( $r = 0.997$ ) besteht Linearität zwischen der Fluoreszenzintensität der Ginsenosid Re - Flecke und deren Konzentrationen. Daß die Regressionsgerade nicht durch den Achsenschnittpunkt verläuft, erklärt sich aus der apparativen Meßungenauigkeit bei sehr geringen Konzentrationen.

Der Gehalt an Ginsenosid Re im Ginseng-Auszug wird anhand der nach  $x$  aufgelösten Formel der Regressionsgerade

$$x = \frac{y + 0.01455}{16.7459}$$

durch Einsetzen der ermittelten Peakhöhe mal Faktor ( $y' \cdot \text{Faktor} = y$ ) ausgerechnet und der der anderen Ginsenoside im Ginseng-Extrakt auf gleiche Weise bestimmt.

Zusätzlich zur Eichgerade von Ginsenosid Re wurden auch noch von den Ginsenosiden Rc, Rd und  $Rg_1$  die Eichgeraden aufgestellt, um den möglichen Fehler kennenzulernen, der sich ergibt, wenn nur auf eine Eichgerade bezogen wird. Wir fanden im Ginsenosidgehalt Abweichungen von 1% bis 8%. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Meßfehler größer wurden, je kleiner die Peakhöhen und je geringer die aufgetragenen Konzentrationen waren. Wie in Abb. 6, S. 23, bereits gezeigt wurde, ist die Peakhöhe des Ginsenosid  $Rg_1$  bei gleicher Konzentration geringer als z.B. die des Ginsenosid Rc. Deshalb ist mit dieser Regressionsgerade bei der Auswertung die größte Abweichung im Gesamtextrakt aufgetreten.

Damit ist die Ginsenosid Re - Standardlösung zur Aufstellung der Eichgerade geeignet. Die erhaltene Fluoreszenzintensität ist gut auswertbar. Meß- und Gerätefehler treten kaum in Erscheinung. Die Verwendung dieser Eichgerade ist besonders deshalb sinnvoll, weil erfahrungsgemäß im Ginseng-Extrakt ein mittelhoher Gehalt an Ginsenosid Re enthalten ist, der gut bestimmt werden kann. In keinem Fall beobachteten wir Werte, die im höchsten Konzentrationsbereich oder darüber lagen.

T a b e l l e 9

Korrelation der Meßwertepaare und Regressionsgerade für die Ginsenosid Re - Konzentrationsreihe

| Auftragmenge ( $\mu\text{l}$ ) | Auftragmenge ( $\mu\text{g}$ )<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| 1.5                            | 0.075                                 | 1.20                 |
| 2.0                            | 0.100                                 | 1.70                 |
| 2.5                            | 0.125                                 | 2.10                 |
| 3.0                            | 0.150                                 | 2.60                 |
| 3.5                            | 0.175                                 | 2.85                 |
| 4.0                            | 0.200                                 | 3.20                 |
| 5.0                            | 0.250                                 | 4.25                 |

|                |                                            |
|----------------|--------------------------------------------|
| $r = 0.997$    | $r =$ Korrelationskoeffizient              |
| $T = 142.973$  | $T =$ Testgröße                            |
| $k = -0.01455$ | $k =$ Achsenabschnitt                      |
| $b = 16.74590$ | $b =$ Steigerungsmaß der Regressionsgerade |
| $y = k + bx$   | $y =$ Regressionsgerade                    |

y Fluoreszenzintensität

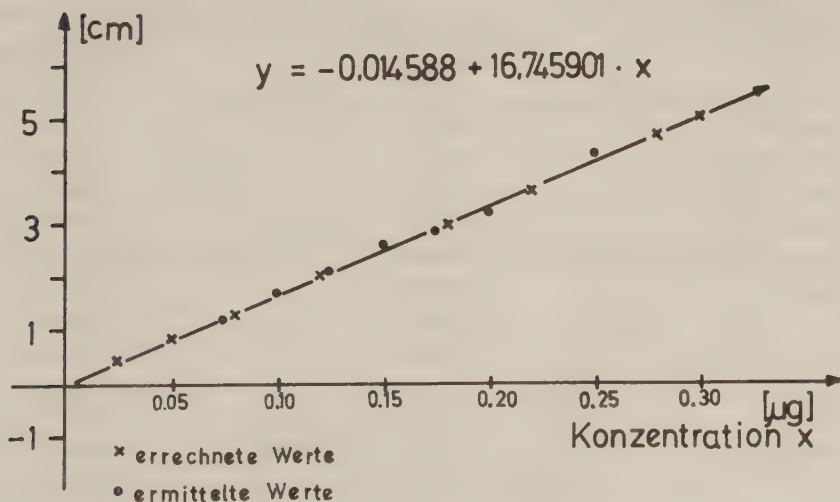


Abb. 8 : Regressionsgerade des Ginsenosid Re - Standards

# 8.9. Überprüfung verschiedener Extraktionsmethoden aus Panax ginseng

In der Literatur fanden wir als Extraktionsmittel hauptsächlich Methanol und Wasser bzw. Gemische (87,88,89,90,91). Die Lösungsmittelmischung Methanol mit Wasser (30 Vol.%) zeigte einen niedrigeren Gesamtgehalt als nach Extraktion mit Methanol oder Wasser allein. Wir untersuchten die Ginsenosidzusammensetzung von Methanol- und Wasserextrakten (Abb. 9, S. 33) und bestimmten die Gesamtginsenosidgehalte einer Ginsengdroge mit der Bezeichnung: 6jährige koreanische Ginsengwurzel, Typmuster 735 01 (Tab. 10).

Für den Methanolextrakt ermittelten wir einen Ginsenosidge-  
samtgehalt von  $0.4360 \mu\text{g} = 5.81\%$ . Für die Ginsenoside  $\text{Rg}_1$   
und  $\text{Rg}_2$  erhielten wir einen Wert von  $0.0225 \mu\text{g}$ . Dieser liegt  
verglichen mit dem Wasserextrakt um ca. 40% zu niedrig.  
Addiert man diese Menge ( $0.0091 \mu\text{g} = 40\%$ ) hinzu, kommt man  
auf einen Gesamtgehalt der Droge von 5.93%.

T a b e l l e 10

Werte des Methanol- und Wasserextraktes von Panax ginseng  
Auftragemenge: 3  $\mu\text{l}$ , entsprechend 7.5  $\mu\text{g}$  Droge

| Saponin bzw.<br>Ginsenosid          | methanolischer<br>Ginsengextrakt<br>( $\mu\text{g}$ ) | wässriger<br>Ginsengextrakt<br>( $\mu\text{g}$ ) |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Sap. RX                             | 0.1176                                                | 0.1176                                           |
| Gins. $\text{Rb}_1$ , $\text{Rb}_2$ | 0.1434                                                | 0.1324                                           |
| Gins. Ro                            | 0.0274                                                | 0.0273                                           |
| Gins. Rc                            | 0.0510                                                | 0.0510                                           |
| Gins. Rd                            | 0.0271                                                | 0.0235                                           |
| Gins. Re                            | 0.0392                                                | 0.0314                                           |
| Gins. $\text{R}_f$                  | 0.0078                                                | 0.0078                                           |
| Gins. $\text{Rg}_1$ , $\text{Rg}_2$ | 0.0225 !                                              | 0.0316 !                                         |
| $\text{F}_{\text{rot}}$             | -                                                     | 0.0196                                           |
| Gesamtgehalt                        | 0.4360 (= 5.81%)                                      | 0.4422 (=5.89%)                                  |

# Ginsenoside

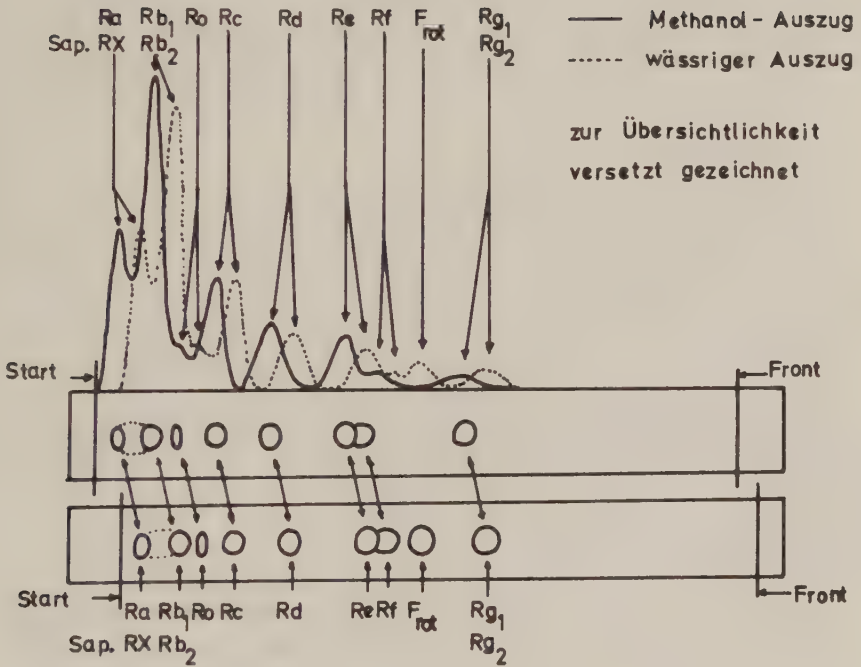


Abb. 9

DC-Skizze und Ortskurven der Wasser- und Methanolextrakte

Wie aus der Tabelle 10 hervorgeht, lagen einige Ginsenoside in beiden Drogenauszügen in etwa gleicher Konzentration vor. Übereinstimmung zeigte sich bei den Ginsenosiden Ro, Rc, Rf und dem Fleck von Saponin RX, der vermutlich mit dem bisher strukturell noch nicht geklärten Ginsenosid Ra überlagert ist. Höher konzentriert waren im Methanolauszug dagegen die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rd und Re. Nur die Ausbeuten der Ginsenoside Rg<sub>1</sub> und Rg<sub>2</sub> übertrafen im Wasserextrakt die des Methanolextraktes.

Auffallend war im Wasserextrakt das Auftreten eines Flecks (F<sub>rot</sub>) zwischen den Ginsenosiden Rf und Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>. Er verhielt sich bei der Detektion wie ein Ginsenosid. Wir fanden ihn auch im Methanolextrakt der roten Ginsengwurzel. Es ist daraus zu schließen, daß er nicht genuin in der Droge vorkommt, sondern erst bei der Wasserextraktion entsteht. Im 30%igen Methanol-Wassergemisch konnte er nicht nachgewiesen werden. Rechnet man den Gehalt dieses Artefakts hinzu, so erhält man einen Gesamtwert von 0.4422 µg = 5.89% (ohne F<sub>rot</sub>: 0.4226 µg = 5.63%) im Wasserextrakt.

Wenn der zusätzlich auftretende Fleck (F<sub>rot</sub>) des Wasserextraktes ein Ginseng-Saponin darstellt, müßte dieser Gehalt von 0.27% zum Gesamtgehalt des Methanolextraktes hinzugerechnet werden. Vermutlich handelt es sich aber nicht um eines der bisher beschriebenen Saponine, da es nur bei dieser Extraktionsweise aus der Droge herausgelöst werden konnte. Keine Literatur berichtet über die Isolierung einer solchen Verbindung aus einer roten Ginseng-Droge. Möglicherweise liegt ein Saponin-Umwandlungsprodukt vor. Wenn man diesen Wert (F<sub>rot</sub>) dem Saponingehalt des Methanolextraktes hinzurechnet, erhält man folgende %-Werte für die Ginsengdroge (Tab. 11, S. 35), berechnet auf die getrocknete Droge.

T a b e l l e 11

Ginsenosidgehalte des Methanol- und Wasserextraktes von Panax ginseng unter Berücksichtigung der Umwandlungsprodukte

| Ginsenoside                                                                                      | methanolischer<br>Ginsengextrakt<br>( $\mu\text{g}$ ) | wässriger<br>Ginsengextrakt<br>( $\mu\text{g}$ ) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Ra, Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> , Ro, Rc,<br>Rd, Re, Rf, Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> |                                                       |                                                  |
| Saponin RX                                                                                       | 0.4360 (= 5.81%)                                      | 0.4226 (= 5.63%)                                 |
| Diff. Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> (40%)                                                    | 0.0091 (= 5.93%)                                      | -                                                |
| F <sub>rot</sub>                                                                                 | 0.0196                                                | 0.0196                                           |
| Gesamtgehalt                                                                                     | 0.4647 (= 6.20%)                                      | 0.4422 (= 5.89%)                                 |

Bei der Wasserextraktion trat außerdem Schaumbildung auf, die zwar durch Zusatz eines Silikonentschäumers unterbunden werden konnte. Das anschließende Auftragen einer definierten Wassermenge ist aber langwierig, da die wässrige Lösung auf der geringen Auftragestrecke nur langsam trocknete. Außerdem kam es dabei oft zu einer Beschädigung der Kieselgelschicht. Wurde die wässrige Lösung eingeengt und mit Methanol verdünnt, entstand ein Niederschlag, der leicht Ginsenoside adsorbieren konnte. Bei Aufnahme des getrockneten Wasserextraktes mit Methanol entstanden ebenfalls Verluste.

Die Wasserextraktion wurde auch deshalb nicht gewählt, weil hiermit störende Begleitstoffe in hohem Maße mitextrahiert werden. Die im Wasserextrakt enthaltenen freien Zucker liegen auf der DC-Platte zwischen dem Saponin RX und den Ginsenosiden Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> bis Rc und stören durch Überlagerung die quantitative Fluorometrie erheblich.

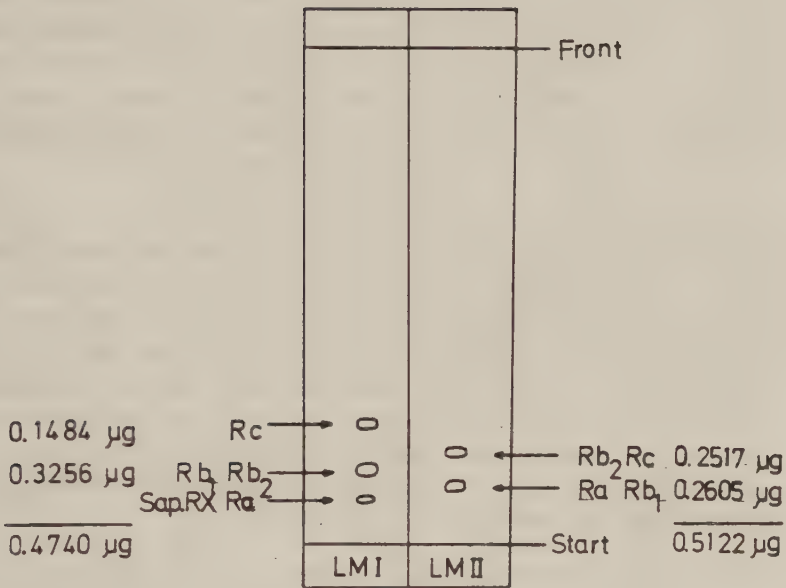
Weshalb im Methanolauszug die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> (Protopanaxadiolgruppe) und im Wasserextrakt die Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> (Protopanaxatriolgruppe) höher konzentriert waren, er-

klärt sich aus der unterschiedlichen Anzahl freier OH-Gruppen im Aglykonanteil und der nichtglykosidierten C<sub>3</sub>-OH-Gruppe.

SHIBATA gibt in einer Tabelle zur quantitativen Extraktion der Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rg<sub>1</sub> Werte für verschiedene Methanol-Wasser-Mischungen an (90), wobei sich 90%iges Methanol als am besten erwies. Das Lösungsverhalten der anderen Ginsenoside wurde allerdings nicht berücksichtigt. TANAKA (91) bestätigt diese Feststellung und verwendet reines Methanol zur Extraktion.

#### 8.10. Getrenntbestimmung der Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub>

In den verschiedensten Drogenmustern (Ginseng-Haupt- und Seitenwurzeln) wurde immer ein hoher Gehalt an den Ginsenosiden Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> festgestellt, der im LM I als Summe bestimmt wurde. Auch in den Seitenwurzeln machten beide zusammen 5.21% aus. Diese Werte sollten nach Trennung im Laufmittelgemisch II (8.1.) überprüft werden. Aus der DC geht hervor (siehe S. 37 und 39), daß im LM I die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub>, bzw. das Saponin RX und das Ginsenosid Ra nicht trennbar sind. Das Ginsenosid Rc war dagegen ein Einzelpeak. Der Versuch, die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> im LM II aufzutrennen, gelang nur bedingt: die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> waren zwar als getrennte Flecke nachzuweisen, in dem LM II jedoch erneut überlagert, und zwar das Ginsenosid Rb<sub>1</sub> mit Ra und das Ginsenosid Rb<sub>2</sub> mit Rc. Durch einfache Differenzbestimmung und Berechnungen ließen sich aber die Werte der einzelnen Ginsenoside ermitteln (Abb. 10, S. 37). So erhielten wir, da das Ginsenosid Rc bereits aus LM I gegeben war, durch Subtraktion folgende Werte: Ginsenosid Rb<sub>1</sub> = 0.2223 µg, Ginsenosid Rb<sub>2</sub> = 0.1033 µg und Ginsenosid Ra = 0.0382 µg, d.h., die Ginsenoside liegen in dem untersuchten Muster im Verhältnis 1:5.8:2.7:3.9 (Ginsenosid Ra:Rb<sub>1</sub>:Rb<sub>2</sub>:Rc) vor.



|                                              |                                 |             |
|----------------------------------------------|---------------------------------|-------------|
| Ginsenosid Rb <sub>2</sub> + Rc              | 0.2517 µg                       | (LM II)     |
| <u>minus Ginsenosid</u>                      | <u>Rc 0.1484 µg</u>             | (LM I)      |
| = Ginsenosid Rb <sub>2</sub>                 | 0.1033 µg                       |             |
| Ginsenosid Rb <sub>1</sub> + Rb <sub>2</sub> | 0.3256 µg                       | (LM I)      |
| <u>minus Ginsenosid</u>                      | <u>Rb<sub>2</sub> 0.1033 µg</u> | (errechnet) |
| = Ginsenosid Rb <sub>1</sub>                 | 0.2223 µg                       |             |
| Ginsenosid Ra + Rb <sub>1</sub>              | 0.2605 µg                       | (LM II)     |
| <u>minus Ginsenosid</u>                      | <u>Rb<sub>1</sub> 0.2223 µg</u> | (errechnet) |
| = Ginsenosid Ra                              | 0.0382 µg                       |             |

Abb. 10

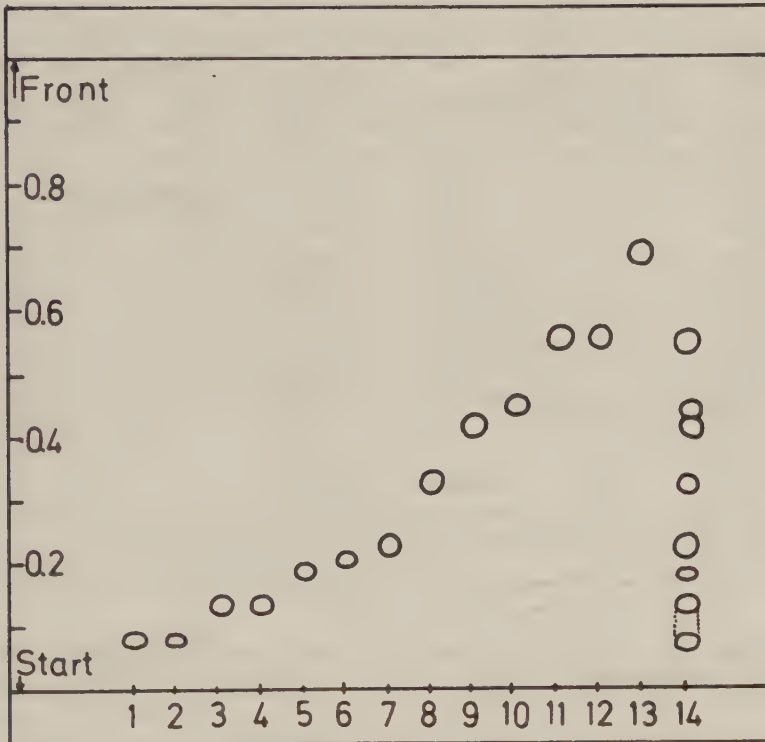
Berechnung der Ginsenosid-Einzelwerte von Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> durch Subtraktion in Panax ginseng-Seitenwurzeln

#### 8.11. Bestimmung der Ginsenoside in einem Methanol-Extrakt aus Ginseng-Seitenwurzeln

In den zunächst zur Verfügung stehenden Ginseng-Hauptwurzeln konnten in der Regel nur 2% bis 3% Ginsenoside nachgewiesen werden. Die Seitenwurzeln besaßen jedoch eine höhere Konzentration an Ginsenosiden. Da diese später in ausreichender Quantität zur Verfügung standen, wurden alle nötigen Voruntersuchungen mit diesen Extrakten durchgeführt.

Im DC-Bild des Methanolextraktes der Seitenwurzeln (Abb. 11, S. 39) konnten fast alle der bisher strukturgeklärten Ginsenoside in hoher Konzentration bereits visuell festgestellt werden. Im unteren  $R_f$ -Bereich traten die Flecke der Ginsenoside  $Rb_1$ ,  $Rb_2$  am stärksten hervor. Auch der mit RX, Ra bezeichnete Fleck zeigte hohe Konzentration. Ebenso waren die Ginsenoside Rc, Rd und Re gut nachweisbar. Gering angereichert waren dagegen die Ginsenoside Ro, Rf und  $Rg_1$ ,  $Rg_2$ , während die mitunter nur in Spuren in der Droge vorkommenden Ginsenoside  $Rb_3$  und  $Rh_1$  ganz fehlten.

Der mit RX bezeichnete Fleck war keinem der bekannten Ginsenoside zuzuordnen. Aus dem Anfärbeverhalten ist aber abzuleiten, daß es sich um ein Saponin handelt. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß dieser Fleck ausschließlich dem dort ebenfalls lokalisierten Ginsenosid Ra (1) zugeschrieben werden kann, da dieses laut Literatur nur in geringer Menge in der Droge vorkommt (siehe Abb. 10, S. 37). In der Tabelle 12 sind die gefundenen Werte für die einzelnen Ginsenoside aufgeführt.



Laufmittelgemisch: n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5)

Detektion: Liebermann-Burchard-Reagenz

- |                                |                                                       |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1 = Saponin RX                 | 8 = Ginsenosid Rd                                     |
| 2 = Ginsenosid Ra              | 9 = Ginsenosid Re                                     |
| 3 = Ginsenosid Rb <sub>1</sub> | 10 = Ginsenosid Rf                                    |
| 4 = Ginsenosid Rb <sub>2</sub> | 11 = Ginsenosid Rg <sub>1</sub>                       |
| 5 = Ginsenosid Ro              | 12 = Ginsenosid Rg <sub>2</sub>                       |
| 6 = Ginsenosid Rb <sub>3</sub> | 13 = Ginsenosid Rh <sub>1</sub>                       |
| 7 = Ginsenosid Rc              | 14 = Ginsenoside im Extrakt aus Ginseng-Seitenwurzeln |

Abb. 11

DC-Schema der Ginsenoside eines Ginseng-Seitenwurzelmethanolextraktes

T a b e l l e 12

Ginsenosidgehalt der Seitenwurzeln

| Auftragmenge<br>5 $\mu$ l = 6.25 $\mu$ g<br>Droge | y' (cm)<br>(ermittelte<br>Höhe) | y (cm)<br>(y' $\cdot$<br>Faktor) | x ( $\mu$ g)<br>(Gehalt) | %Gehalt berechnet<br>auf<br>Droge Ginsenoside |        |
|---------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------|--------|
| Ginsenosid Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub>      | 8.70                            | 5.4375                           | 0.3256                   | 5.21                                          | 42.86  |
| Ginsenosid Ro                                     | 0.65                            | 0.6045                           | 0.0370                   | 0.59                                          | 4.87   |
| Ginsenosid Rc                                     | 3.80                            | 2.4700                           | 0.1484                   | 2.38                                          | 19.54  |
| Ginsenosid Rd                                     | 1.65                            | 0.9900                           | 0.0600                   | 0.96                                          | 7.90   |
| Ginsenosid Re                                     | 1.55                            | 1.5500                           | 0.0934                   | 1.49                                          | 12.30  |
| Ginsenosid Rf                                     | 0.30                            | 0.3000                           | 0.0188                   | 0.30                                          | 2.47   |
| Ginsenosid Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>      | 0.50                            | 1.2650                           | 0.0764                   | 1.22                                          | 10.06  |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside                      |                                 |                                  | 0.7596                   | 12.15                                         | 100.00 |
| Ginsenosid Ra mit<br>Saponin RX                   | 2.65                            | 2.6500                           | 0.1591                   | 2.55                                          |        |
| Gesamtgehalt aller Ginseng-Saponine               |                                 |                                  | 0.9187                   | 14.70                                         |        |

Abbildung 12, S. 41, zeigt das DC-Schema und die Ortskurve des Ginseng-Seitenwurzel-auszugs.

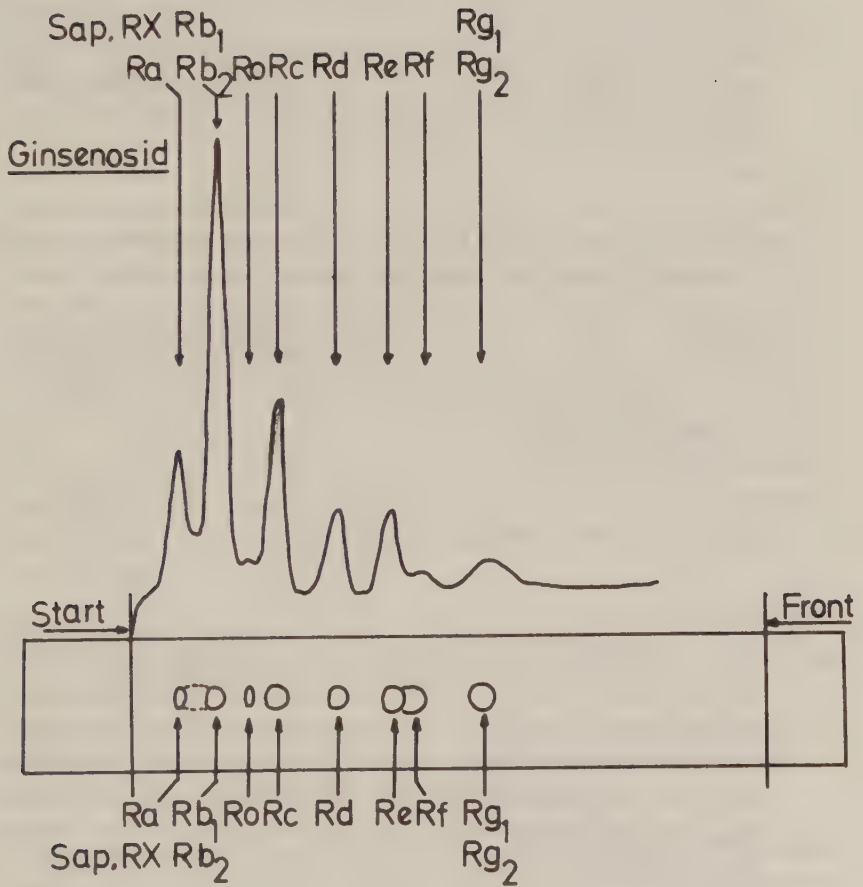


Abb. 12

DC-Schema und Ortskurve des Ginseng-Seitenwurzelauszugs

Wie bei der Überprüfung der Extraktionsmethode bereits festgestellt wurde, liegt der tatsächliche Gehalt der Ginsenoside  $Rg_1$ ,  $Rg_2$  in dem Methanolextrakt um etwa 40% höher. Rechnet man auch den im Methanolextrakt nicht nachweisbaren  $F_{rot}$ -Gehalt hinzu (die Kontrollanalyse des Wasserextraktes zeigte seine Anwesenheit), ergeben sich folgende Mengenzusammensetzungen für die Ginseng-Seitenwurzel (Tab. 13).

T a b e l l e 13

Ginsenosidgehalte des methanolischen Ginseng-Seitenwurzel-  
 auszugs unter Berücksichtigung der Umwandlungsprodukte

| Ginsenoside                                                                                                      | methanolischer Ginseng-Seiten-<br>wurzel-auszug |       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------|
|                                                                                                                  | ( $\mu g$ )                                     | (%)   |
| Ra, Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> , Ro, Rc,<br>Rd, Re, Rf, Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> ,<br>Saponin RX | 0.9187                                          | 14.70 |
| Diff. Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> (40%)                                                                    | 0.0306                                          | 15.19 |
| $F_{rot}$                                                                                                        | 0.0421                                          |       |
| Gesamtgehalt                                                                                                     | 0.9941                                          | 15.87 |

Die Ginsenoside Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> stellen somit den weitaus höchsten Anteil im Gemisch dar. Das Ginsenosid Rc machte ein Fünftel im Ginsenosidgemisch aus, während die Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> und Re mit über 10% weniger konzentriert waren. Hierbei wurde deutlich, daß die reine visuelle Beurteilung quantitative Unterschiede nicht exakt erkennen läßt.

## 8.12. Diskussion der Ergebnisse

Der über die DC-Direktauswertung ermittelte Gehalt an bekannten Ginsenosiden in den Seitenwurzeln von *Panax ginseng* liegt wesentlich höher als in den Hauptwurzeln. Diese hohe Konzentration der Ginsenoside in den Seitenwurzeln wurde auch von anderen Autoren bestätigt. HONERLAGEN und Mitarb. (87) finden in den Seitenwurzeln mit anderer Methode 6% bis 9%, während SHIBATA und Mitarb. (89,90) 11% und 12% für verschiedene Drogenmuster angibt. Hier findet man besonders gute Übereinstimmung zwischen den Werten SHIBATA's und dem getesteten Drogenmuster, obwohl mit Sicherheit jeweils andere Drogenchargen verwendet wurden. Es überwiegen in der Gesamtginsenosidfraktion die Ginsenoside  $Rb_1$  und  $Rb_2$  mit 5.21% (SHIBATA 5.6%). Die Werte für die Ginsenoside  $Ro$ ,  $Re$  und  $Rf$  sind nahezu identisch. Gute Kongruenz zeigen ebenfalls die Ergebnisse für die Ginsenoside  $Rc$ ,  $Rd$  und  $Rg_1$ ,  $Rg_2$ . Der offensichtlichste Unterschied war der um ca. 3% höhere Gesamtginsenosidgehalt im Vergleich zur Literatur. Dies erklärt sich durch das von SHIBATA zur Extraktbereitung verwendete Methanol.

Die Tatsache, daß die normale Handelsdroge nur etwa 1% bis 7% Ginsenoside enthält, läßt sich dadurch erklären, daß diese praktisch ohne Seitenwurzeln in den Handel kommt. Nach SHIBATA (89) sind die Ginsenoside hauptsächlich im Rindenparenchym angereichert. Dieser Anteil ist wiederum bei den Seitenwurzeln prozentual höher als bei den Hauptwurzeln.

In der Volksmedizin wird der Hauptwurzel die Hauptwirksamkeit zugesprochen. Die Seitenwurzeln werden sogar als minderwertig betrachtet und offenbar verworfen. Zweifelhaft ist damit wieder, ob die Ginsenoside tatsächlich das einzige Wirkprinzip der Droge darstellen, oder ob bisher noch nicht beachtete oder entdeckte Inhaltsstoffe, wie etwa Polysaccharide, an der Wirkung der Droge mit beteiligt sind.

9.13. Ginsenosid-Zusammensetzung und Ginsenosid-Bestimmung in  
Wurzelauszügen von "rotem" und "weißem" Ginseng, *Panax*  
*quinquefolius*, *Panax pseudoginseng* und *Panax japonicus*

Wie die Abb. 13 zeigt, können die Ganzdrogen aufgrund ihrer unterschiedlichen Farbe und Form unterschieden werden. Eine sichere Unterscheidung, vor allem aber auch von Extrakten, gelingt auf einfache Weise durch die DC (92) (Abb. 14, S. 45).



Abb. 13

Ersatzdrogen für *Panax ginseng*

1 = *Panax ginseng* (weiß)

3 = *Panax ginseng* (rot)

2 = *Panax quinquefolius*

4 = *Panax japonicus*

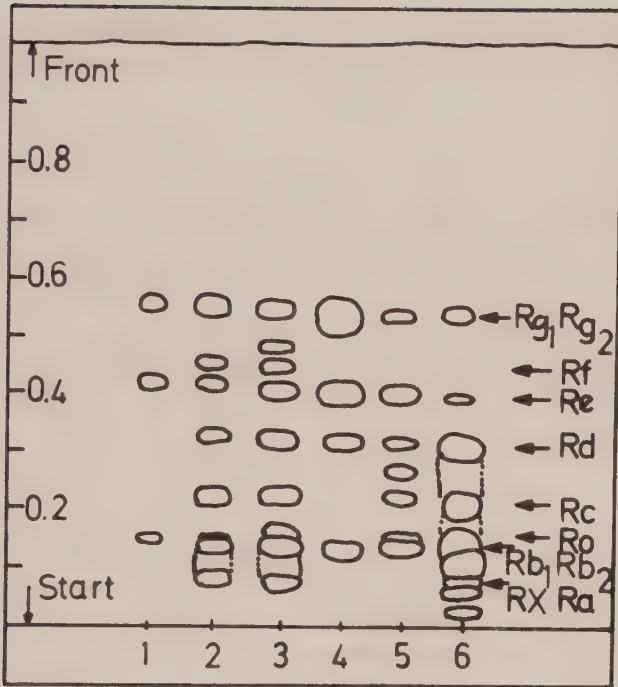


Abb. 14

Chromatogrammbild verschiedener Panax-Arten

Laufmittelgemisch: n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5)

Detektion: Liebermann-Burchard-Reagenz

- 1 = Ginsenoside Ro, Re und Rg<sub>1</sub>
- 2 = Panax ginseng, weiße Varietät
- 3 = Panax ginseng, rote Varietät
- 4 = Panax pseudoginseng
- 5 = Panax quinquefolius
- 6 = Panax japonicus

Wie aus der Tabelle 14 hervorgeht, kommen einige der bisher strukturell geklärten Ginsenoside in mehreren Panax-Arten unter anderen Bezeichnungen vor.

T a b e l l e 14

Identische Inhaltsstoffe verschiedener Panax-Arten

| Panax ginseng<br>(Pg)      | Panax japonicus<br>(Pj)      | Panax pseudogin-<br>seng ssp.himalai-<br>cus (Pp) | Panax quinque-<br>folius (Pq)     |
|----------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Ginsenosid<br>(1-5)        | Chikusetsusaponin<br>(50-54) | Saponin/Ginseno-<br>sid (55-57)                   | Panaquilin/Gin-<br>senosid(58,59) |
| Ro                         | V                            | A                                                 |                                   |
| Rb <sub>1</sub>            |                              | D                                                 | B                                 |
| Rb <sub>2</sub>            |                              |                                                   | B/C                               |
| Rb <sub>3</sub>            |                              | /Rb <sub>3</sub>                                  |                                   |
| Rc                         |                              |                                                   | C                                 |
| Rd                         |                              | /Rd                                               | D/B <sub>1</sub>                  |
| Re                         | IVc                          | /Re                                               | E-2, E-3/B <sub>2</sub>           |
| Rf                         |                              |                                                   |                                   |
| 20-Glucogin-<br>senosid Rf |                              |                                                   |                                   |
| Rg <sub>1</sub>            |                              |                                                   | G-1/A <sub>2</sub>                |
| Rg <sub>2</sub>            | I                            |                                                   |                                   |
| Rh <sub>1</sub>            |                              |                                                   |                                   |
|                            | Ia                           |                                                   |                                   |
|                            | Ib                           |                                                   |                                   |
|                            | II                           |                                                   |                                   |
|                            | III                          |                                                   |                                   |
|                            | IV                           | B                                                 |                                   |
|                            | IVa                          | C                                                 |                                   |
|                            |                              |                                                   | E-1                               |
|                            |                              |                                                   | G-2                               |

### 8.13.1. Dünnschichtchromatographie von weißer und roter Ginsengwurzel

Konzentrationsmäßig traten bei beiden Drogenchargen die Ginsenoside  $Rb_1$ ,  $Rb_2$  am stärksten hervor. Bei der roten Varietät waren auch die anderen Ginsenoside, namentlich  $Rc$  und  $Rd$ , in höherer Konzentration nachweisbar. Bei der roten Ginsengwurzel trat zusätzlich ein Fleck bei  $R_f$  0.47 auf. Es ist anzunehmen, daß dieser Fleck bei der Wasserdampfbehandlung entsteht. Er läßt sich auch, wie bereits erwähnt, nach Extraktion der Droge mit Wasser (=  $F_{rot}$ ) nachweisen. Da insgesamt 17 Drogenchargen der weißen und roten Wurzel untersucht wurden, dürfte dieses Unterscheidungsmerkmal charakteristisch sein.

### 8.13.2. DC von Panax pseudoginseng

Das Chromatogrammbild ähnelte dem von Panax ginseng. Es fehlten die Flecke bei  $R_f$  0.44 (Ginsenosid  $R_f$ ) und bei  $R_f$  0.21 (Ginsenosid  $Rc$ ). Nach SHIBATA (93) soll das Ginsenosid  $Rc$  in sehr geringer Konzentration vorhanden sein. SHOJI (94) gibt an, daß die Ginsenoside  $R_f$  und  $Rc$  überhaupt nicht nachweisbar in der Droge sind. Es überwog von allen Flecken jener in Höhe der Ginsenoside  $Rg_1$ ,  $Rg_2$ . Eine genaue chemische Zuordnung ist hier bisher nicht getroffen worden. Da die Ginsenoside der Diol-Reihe nach der Liebermann-Burchard-Detektion eine orange-rosa, die der Triol-Reihe eine violett-rosa Fluoreszenzfärbung aufweisen, dürfte es sich auch hiernach (violett-rosa Färbung) um die Ginsenoside  $Rg_1$ ,  $Rg_2$  handeln. Demnach wäre Panax pseudoginseng durch einen sehr hohen Gehalt an den Ginsenosiden  $Rg_1$ ,  $Rg_2$  charakterisiert.

### 8.13.3. DC von Panax quinquefolius

Das Chromatogrammbild deckte sich nahezu mit dem von Panax ginseng. Auch hier fehlte wieder der Fleck bei  $R_f$  0.44 (Ginsenosid  $R_f$ ). Die Ginsenoside  $Rg_1$ ,  $Rg_2$  waren nur schwach

nachweisbar. Laut SHIBATA ( 93) soll diese Droge kein Ginsenosid Rc enthalten, während SHOJI ( 94) keine Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> findet. Beide Angaben konnten wir für das uns zur Verfügung stehende Probenmuster nicht voll bestätigen. Zusätzlich zeigte das DC-Bild unserer Droge einen Fleck zwischen den Ginsenosiden Rc und Rd. Es könnte sich hierbei um einen der mit Panaquilin E-1 bzw. G-2 benannten Inhaltsstoffe handeln (59).

#### 8.13.4. DC von Panax japonicus

Die Droge war charakterisiert durch eine stark konzentrierte Zone im R<sub>f</sub>-Bereich von 0.08 bis 0.32. Die Flecke lagen in Höhe der Ginsenoside Ro, Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc und Rd. Die Ginsenoside Rg<sub>2</sub> und das darunterliegende Re traten nur sehr schwach in Erscheinung. Da einige der Saponine aus Panax japonicus der Oleanolsäuregruppe angehören, sind sie im unteren R<sub>f</sub>-Bereich zu erwarten. Die Saponine der Panaxadiol-Gruppe (Chikusetsusaponin Ia und III) lagen im DC-Bild zwischen den Ginsenosiden Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> und Re (50-54). Das Chromatogrammbild stimmte mit der von SHIBATA für die Droge angegebenen Zusammensetzung gut überein ( 93).

#### 8.13.5. Unterscheidung der verschiedenen Panax-Arten

Am deutlichsten unterscheidet sich die Panax japonicus-Droge durch die starken, im R<sub>f</sub>-Bereich 0.08 bis 0.32 liegenden Flecke von den anderen Arten. Die offizinelle Droge Panax ginseng ist durch das Vorliegen von Ginsenosid Rf charakterisiert, das bei Panax pseudoginseng und Panax quinquefolius fehlt. Außerdem ist der Gehalt an den Ginsenosiden Rb<sub>1</sub> und Rb<sub>2</sub> deutlich erhöht. Der zusätzliche Fleck (F<sub>rot</sub>) zwischen den Ginsenosiden Rf und Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> nach Methanolextraktion charakterisiert die rote Ginsengdroge. Der Panax pseudoginseng-Droge fehlt das Ginsenosid Rc, während ein gut sichtbarer Fleck eines Glykosides in R<sub>f</sub>-Werthöhe der Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> auftritt. Panax quinquefolius ist an der äußerst geringen Ginsenosid Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>-

Konzentration erkennbar. Ein weiterer Fleck zwischen den Ginsenosiden Rc und Rd ist ein zusätzliches Charakteristikum dieser Droge.

#### 8.13.6. Quantitative Auswertung der DC-Direktbestimmungen von verschiedenen Panax-Wurzelextrakten

In der Tabelle 15, S. 51, sind die Ergebnisse der ausgewerteten Ortskurven (Abb. 15, S. 52) angegeben.

Die weiße Wurzel von Panax ginseng enthält die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> (25%) und das Saponin RX zusammen mit Ginsenosid Ra (22%) in höchster Konzentration. Auch die Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> sind mit zusammen ca. 18% stark vertreten. Die Ginsenoside Rc, Rd und Re bilden die Gruppe der gehaltsmäßig weniger stark vertretenen Saponinfraktion.

Die rote Wurzel von Panax ginseng zeigt einen höheren Gesamtgehalt an Ginsenosiden, als die weiße Varietät. Anteilmäßig sind die Mengen der Ginsenoside jedoch verschieden. Auch hier stellen die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> die Hauptfraktion (31%), gefolgt von den Ginsenosiden Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> (28%). Die Ginsenoside Ro, Rc und Rd haben etwa gleiche Werte (10%, 11%, 9%), während das Ginsenosid Re mit 3.4% eine sehr geringe Konzentration aufweist. Auffallend ist, daß das Saponin RX und das Ginsenosid Ra nur 1.4% im Saponinanteil ausmachen. Die Substanz "Fleck F<sub>rot</sub>" hat etwa den gleichen Wert wie Ginsenosid Re.

Die Panax pseudoginsengdroge liefert einen sehr hohen Ginsenosidgesamtgehalt. Wenn der Fleck bei R<sub>f</sub> 0.55 mit den Ginsenosiden Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> identisch und mit dem Faktor 2.3 zu berechnen ist, überwiegt er mit ca. 72%, während von den Ginsenosiden Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> mit ca. 16% relativ wenig vorhanden ist. Ein so hoher Gehalt an den Ginsenosiden Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> konnte in keiner der anderen Panax-Arten nachgewiesen werden. Eine Verfälschung von Panax ginseng mit Panax pseudoginseng wäre demnach an dieser starken Anreicherung zu erkennen.

Der Saponingesamtwert von Panax quinquefolius ist mit 3% am geringsten. Er verteilt sich hauptsächlich auf die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> (37%) und Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> (24%). Hier ist auch das Ginsenosid Re mit ca. 11% gut angereichert. Die Ginsenoside Ro, Rc und Rd zeigen Werte von 5% bis 8%. Das Saponin RX und das Ginsenosid Ra fehlen, dafür tritt ein zusätzlicher Peak zwischen den Ginsenosiden Rc und Rd auf, der nicht zu identifizieren war, aber als Saponin mit in die Auswertung einbezogen wurde (5%).

Die Wurzel von Panax japonicus enthält eine hohe Konzentration an Saponinen (21%). Die Hauptmenge ist in den Oleanolsäureglykosiden zu finden, während die Ginsenoside Re und Rg<sub>2</sub> nur geringe Werte liefern (0.07%, 0.78%).

Nach der fluorometrischen DC-Direktauswertung sind die Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> und Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> in allen Panax-Arten als die Hauptinhaltsstoffe anzusehen.

## Ergebnisse der DC-Direktauswertung verschiedener Panax-Arten

r = 0.9964, T = 241.425, k = 0.13, b = 10.0, y = 0.13 + 10 · x, Auftragemenge: 5 µl = 10 µg Droge

| Ginsenosid<br>bzw. Fleck bei<br>Droge | RX, Ra                   | Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | Ro              | Rc              | Rd             | Re              | Rf             | Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> | +40%            | Gesamt-<br>gehalt |
|---------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------------------------|-----------------|-------------------|
| Panax gins. (µg)<br>weiß (%)          | 0.0970<br>22.22          | 0.1120<br>25.65                   | 0.0242<br>5.54  | 0.0520<br>11.91 | 0.0290<br>6.64 | 0.0370<br>8.48  | 0.0070<br>1.60 | 0.0560                            | 0.0784<br>17.96 | 0.4366<br>100.00  |
| Panax gins. (µg)<br>rot (%)           | 0.0070<br>1.40           | 0.1558<br>31.21                   | 0.0521<br>10.44 | 0.0585<br>11.72 | 0.0470<br>9.42 | 0.0170<br>3.40  | 0.0020<br>0.40 | 0.1020                            | 0.1428<br>28.61 | 0.4992<br>100.00  |
| Panax pseu- (µg)<br>dogins. (%)       |                          | 0.1430<br>16.65                   |                 |                 | 0.0230<br>2.68 | 0.0670<br>7.80  |                | 0.4470                            | 0.6259<br>72.87 | 0.8589<br>100.00  |
| Panax quin- (µg)<br>quefol. (%)       |                          | 0.1190<br>37.37                   | 0.0240<br>7.54  | 0.0260<br>8.17  | 0.0170<br>5.34 | 0.0370<br>11.62 |                | 0.0560                            | 0.0784<br>24.62 | 0.3184<br>100.00  |
| Panax jap. +++<br>(µg)                | 0.1070<br>0.2870<br>4.88 | 0.2995                            | 0.5915          | 0.5370          | 0.2870         | 0.0070          |                | 0.0560                            | 0.0784          | 2.1944            |
| (%)                                   | 13.08                    | 13.65                             | 26.95           | 24.47           | 13.08          | 0.32            |                |                                   | 3.57            | 100.00            |

Panax ginseng weiß: 4.37% Gehalt (Gehalt mit Faktor F<sub>rot</sub> = 4.57%)

Panax ginseng rot: 4.99% Gehalt

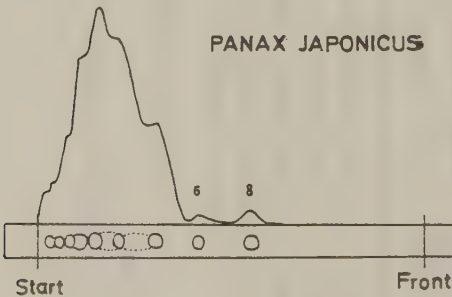
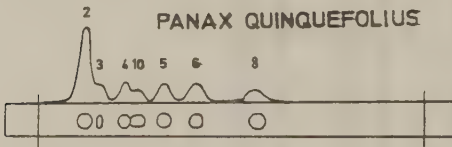
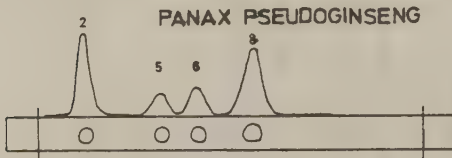
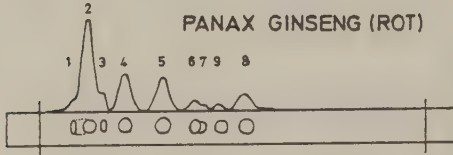
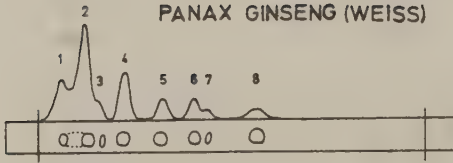
Panax pseudoginseng: 8.59% Gehalt (Gehalt mit Faktor F<sub>rot</sub> = 8.98%)Panax quinquefolius: 3.01% Gehalt (Gehalt mit Faktor F<sub>rot</sub> = 3.15%)

Panax japonicus: 21.94% Gehalt

(%) = %-Gehalt, berechnet auf Ginsenoside

++ = unbekannter Peak

+++ = Flecke auf Höhe der Ginsenoside



GINSENOSID BZW.  
FLECK BEI GINSENOSID

- 1 RX, Ra
- 2 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>
- 3 Ro
- 4 Rc
- 5 Rd
- 6 Re
- 7 Rf
- 8 Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>
- 9 F<sub>rot</sub>
- 10 UNBEKANNTES SAPONIN

Abb. 15

DC-Ortskurven verschiedener Panax-Arten

#### 8.14. Ginsenosidgehalt der Ginsengdroge in Abhängigkeit von äußeren Faktoren

Nach einem Report des Natural Product Research Institute der Natural University in Seoul ( 95) hängt der Saponingehalt der Wurzel vom Erntezeitpunkt ab. Die Wurzeln zeigen im April den höchsten Gehalt und nehmen in den folgenden Monaten bis Oktober um etwa 40% ab. Da die Ginsengwurzel in der Regel im Herbst geerntet wird, besitzt sie zu diesem Zeitpunkt nicht mehr den höchsten Ginsenosidgehalt.

Der Ginsenosidgehalt hängt offenbar auch vom Alter der geernteten Wurzel ab. Bisher wurden bevorzugt sechs Jahre alte Wurzeln geerntet; HONERLAGEN und TRETTER (87) haben dies aufgrund ihrer Ginsenosidgehaltsbestimmung nicht bestätigt gefunden. Nach ihren Untersuchungen weist die vierjährige Ginsengwurzel des Handels einen höheren Saponingehalt als die sechsjährige auf.

Von Bedeutung für die Ginsenosidausbeute scheint auch die Herkunft bzw. das Anbaugebiet zu sein. Der Ginseng wird in verschiedenen Provinzen Südkoreas angebaut, so z.B. in Kaesong, Kimpo, Puyo und Punggi. Bevorzugt für die Herstellung von Handelspräparaten ist die Ginsengwurzel aus der südlichen Provinz Kumsan.

Zusätzlich ist bei der Qualitätsbeurteilung die Unterscheidung von roter oder weißer Ginsengwurzel wichtig. Wie unsere Untersuchungen an 17 Mustern ergaben, scheint der "rote" Ginseng einen höheren Gehalt an Ginsenosiden als der "weiße" Ginseng zu besitzen. Möglicherweise verhindert die Wasserdampfbehandlung einen fermentativen Abbau der Ginsenoside während der Trocknung, Lagerung und Weiterverarbeitung. Diese Aussage ist nur relativ zu der "weißen" Ausgangsdroge zu verstehen, d.h., je nach verwendeter Ausgangsdroge können die Prozentwerte der weißen und roten Varietät auch genau umgekehrt sein. Es ist daher noch ver-

früht, zu behaupten, der rote Ginseng hätte grundsätzlich höhere Saponingehalte als die weiße Ginsengwurzel, solange nicht mehr Untersuchungsmaterial vorliegt.

#### 8.15. Bestimmung der Ginsenoside und des Ginsenosid-Gesamtgehaltes in Handelspräparaten (HP)

Da in den letzten Jahren Ginseng-Präparate im Drogenhandel wieder an Bedeutung gewonnen haben, ist die Bestimmung der Ginsenoside auch in diesen von Interesse.

In der Regel werden die Präparate mit Zusätzen versehen, die z.B. der Geschmacksverbesserung der Extrakte und Tonika dienen sollen. Es handelt sich um Zucker, Pepsin- und, oder Südwein. Diese Korrigentien können bei der Auftrennung bzw. Messung einen erheblichen Störfaktor darstellen, da sie mitunter gleiches Lösungs- und Anfärbeverhalten wie die Ginsenoside zeigen. Den flüssigen Kombinationspräparaten werden außerdem Vitamine und Spurenelemente zugesetzt. Viele dieser Verbindungen ergeben auf dem DC nach der Detektion im sichtbaren Bereich dunkelbraune Zonen, so daß die Fluorometrie in diesem Fall nur bedingt durchführbar ist. Da sie z.T. im gleichen  $R_F$ -Bereich wie die Saponine liegen, sind diese nicht oder nur noch teilweise fluorometrisch bestimmbar. Als ein weiteres Erschwernis kommt beim direkten Auftragen der Tonika auf DC-Kieselgelplatten hinzu, daß die Begleitstoffe das Laufverhalten der Saponine stark beeinflussen und zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Ginsenosid- $R_F$ -Werte führen. Versuche, die Ginsenoside von dem zugesetzten Zucker und anderen Begleitsubstanzen durch Ausschütteln mit Butanol oder durch Sephadex-Chromatographie abzutrennen, führten zu mehr oder minder großen Substanzverlusten an Ginsenosiden. Deshalb haben wir das Bestimmungsverfahren für solche Präparate (z.B. Tonika) in der Weise abgeändert, daß wir die Ginsenoside vorwiegend durch zweidimensionale Chromatographie auftrennten. Die Bestimmung der einzelnen Ginsenoside kann dann ebenfalls durch Aufnahme der jeweiligen Ortskurven erfolgen.

Wie eine Untersuchung von BETZ und Mitarb. (88) gezeigt hat, müssen zur quantitativen Erfassung der Ginsenoside oftmals umfangreiche Extraktionsschritte vorgeschaltet werden, wobei naturgemäß ein Verlust an Ginsenosiden umso leichter eintreten kann, je langwieriger der Extraktionsweg ist. Grundsätzlich sollte in einem solchen Fall auch der zur Herstellung der Arzneiform verwendete Ginsengextrakt zum Vergleich geprüft werden.

Als optimalste Extraktionsverfahren bei Arzneispezialitäten, die den eingedickten Ginsengextrakt in Gelatinekapseln enthielten, bewährten sich zwei Methoden. Nach der ersten wird der Inhalt der Kapseln nach Öffnung in wassergesättigtem n-Butanol aufgenommen. Nach dem zweiten Verfahren wird die ganze Kapsel in Wasser aufgelöst und die Lösung mit einem geeigneten Extraktionsmittel, z.B. n-Butanol, ausgeschüttelt. Von beiden Verfahren erwies sich die Ausschüttelmethode als die praktikablere, obwohl hier nicht gewährleistet ist, daß eine erschöpfende Elution der Ginsenoside aus der Matrix erreicht wird. Handelspräparate in Gelatineform, die gepulverte Ginsengwurzel enthielten, wurden geöffnet und der Inhalt, wie bereits bei Ginseng-Seitenwurzeln beschrieben (S. 38), extrahiert.

#### 8.15.1. Durchführung der Ginsenosid-Bestimmung aus Ginseng-Gelatine-Kapseln

##### Verfahren (a)

Das in Kapseln (HP 1) befindliche Ginseng-Wurzelpulver wird mit 100 ml Methanol 4 Stdn. am Soxhlet extrahiert, die eingeengte Lösung in einen Meßkolben überführt und mit Methanol auf 100.00 ml aufgefüllt. Diese Lösung wird zur DC-Direktauswertung verwendet. Die Auftragemenge beträgt, je Konzentration, 5 µl oder 10 µl.

#### Verfahren (b)

Die Ginseng-Gelatinekapseln (HP 2) werden geöffnet und der enthaltene Spissumextrakt in wassergesättigtem n-Butanol gelöst. Die Butanollösung wird eingeengt, der sirupartige Rückstand in Methanol aufgenommen und im Meßkolben mit Methanol auf 50.00 ml aufgefüllt.

#### Verfahren (c)

Die Spissumextrakt enthaltenden Ginseng-Gelatinekapseln (HP 2) werden in 50 ml Wasser solange bei 40°C geschüttelt, bis alle Kapseln gelöst sind. Diese wässrige Gelatinelösung wird dreimal mit 100 ml wassergesättigtem n-Butanol ausgeschüttelt, die vereinigten Butanollösungen werden eingeengt, in Methanol aufgenommen und im Meßkolben mit Methanol auf 50.00 ml aufgefüllt. Es zeigte sich, daß diese Methode zur DC-Direktauswertung der Ginsenoside besser geeignet war, als Verfahren (b). Nach erneuter Extraktion des Gelatinerückstandes mit Butanol und anschließendem Konzentrieren der Lösung waren im DC keine Ginsenoside mehr nachweisbar. Zur DC wurden 3 µl der Testlösung auf die DC-Platte appliziert.

Zur Kontrolle wurde auch der Ginsenosidgehalt des dem Präparat zugrunde liegenden Ausgangsextraktes (HP 2 a) quantitativ ermittelt.

#### 8.15.2. Bestimmung der Ginsenoside in Ginseng-Tonika

Ginseng-Tonika, die häufigste Arzneiform von Ginseng-Handelspräparaten, können ein- und zweidimensional aufgetrennt werden, wobei das anzuwendende Verfahren davon abhängt, ob bereits die Extraktions- bzw. Ausschüttelungsmethode störende Hauptbegleitstoffe abgetrennt hat. Wenn dies nicht der Fall ist, sollte die zweidimensionale DC durchgeführt werden.

Wir verwendeten sowohl die eindimensionale DC ohne und mit vorhergehender Extraktion, als auch die zweidimensionale

DC, bei der die Tonika ohne vorherige Ausschüttelung aufgetragen wurden. Die zweidimensionale DC brachte bessere Resultate als die eindimensionale DC.

a) eindimensionale DC

Tonikum I (HP 3) wurde direkt aufgetragen, dünn-schicht-chromatographiert und DC-fluorometrisch ausgewertet.

Tonikum II (HP 4) wurde mit Wasser und Methanol versetzt und im Meßkolben aufgefüllt. Diese Lösung wurde zur DC und fluorometrischen Auswertung verwendet.

Die Ausgangslösung, der Fluidextrakt (HP 4a) wurde zur Kontrolle ebenfalls quantitativ bestimmt. Der Extrakt zur DC wurde wie bei HP 4 angefertigt.

b) zweidimensionale DC

Tonikum III (HP 5) und IV (HP 6) wurden wie HP 4 und HP 4a verdünnt und im Meßkolben auf ein definiertes Volumen aufgefüllt.

Zur zweidimensionalen DC wurden, wie in Abb. 16, S. 58, gezeigt, in drei Ecken der DC-Platte je 10 µl der Testlösungen in einem Plattenrandabstand von 2 cm aufgetragen. Nach dem Entwickeln im LM I wurde die DC getrocknet. Anschließend wurden, nach Drehen der DC-Platte um 90°, in DC-Eck 2 neben der bereits aufgetragenen Tonikum-Testlösung unterschiedliche Konzentrationen der Ginsenosid Re-Testlösung zur Aufstellung der Regressionsgerade appliziert. In der nunmehr zweiten Laufrichtung wurde im LM II die DC-Platte erneut entwickelt. Nach der Detektion mußten die aufgetrennten Ginsenosid-Flecke einzeln einjustiert und in LM I-Richtung nacheinander gemessen werden (Abb. 17, S. 59). Die in den DC-Ecken 1 und 3 jeweils eindimensional aufgetrennten Ginsenoside dienen einmal der Zuordnung der zweidimensional entwickelten Ginsenosidflecke. Zum anderen können sie für Kontrollmessungen verwendet werden.

DC-Eck 2

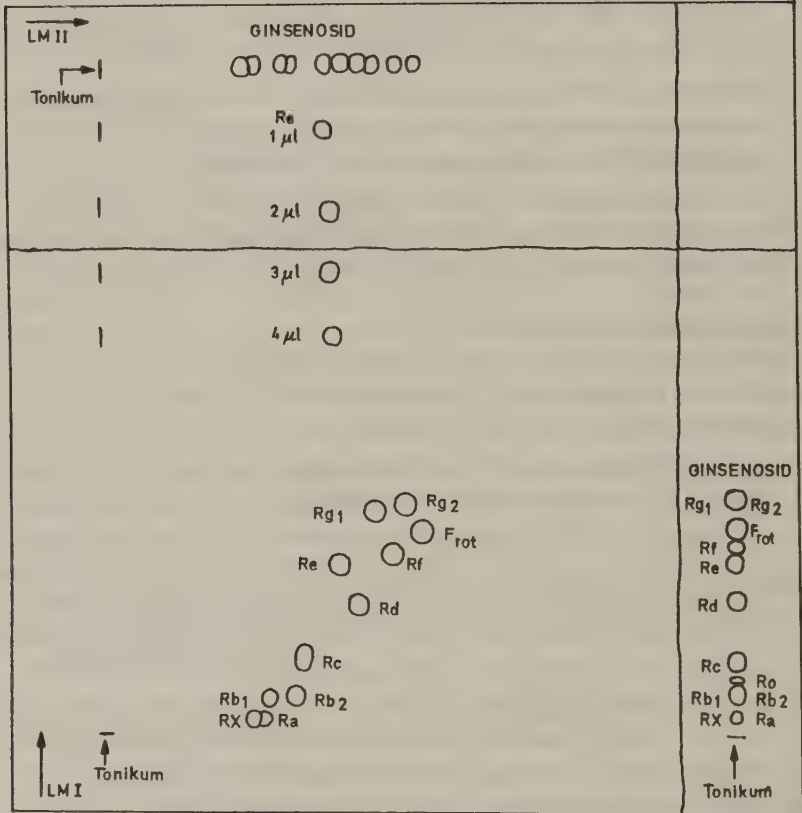


Abb. 16

Skizze der zweidimensionalen DC von HP 6

# Ginsenoside

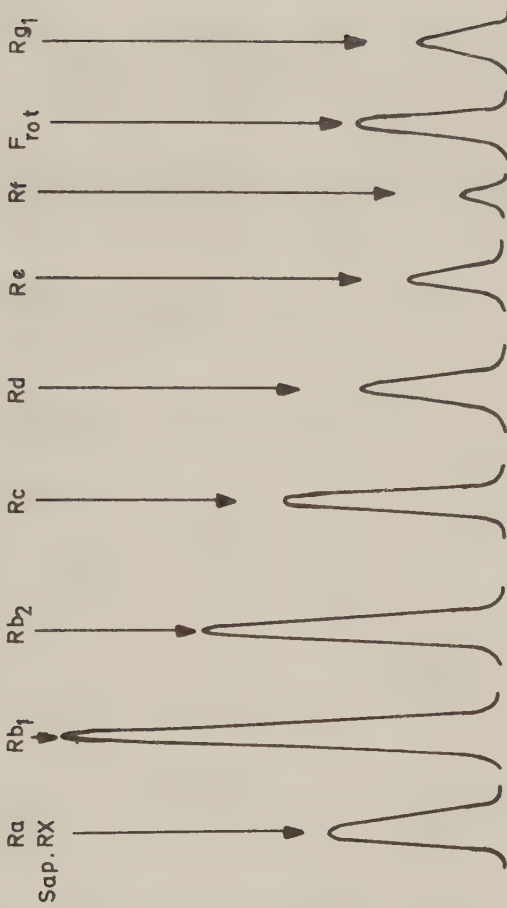


Abb. 17

Ortskurven der einzeln gemessenen Ginsenoside in HP 6

T a b e l l e 16

## Meßergebnisse der Ginseng-Handelspräparate

\* wegen zu niedriger Konzentration nicht meßbar  
 \*\* wegen Überlagerung von Begleitsubstanzen nicht meßbar

| HP    | Ginsenosid bzw. Fleck bei                                                                                | Rb <sub>1</sub><br>Rb <sub>2</sub> | Ro     | Rc     | Rd     | Re     | Rf     | Rg <sub>1</sub><br>Rg <sub>2</sub> | Sap.RX<br>+ Ra | F <sub>rot</sub> | Gesamt-<br>gehalt |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------------------|----------------|------------------|-------------------|
| HP 1  | r = 0.99865, T = 744.72, k = 0.018, b = 6.82, y = 0.018 + 6.82·x, Auftragemenge: 10 µl = 35 µg Droge     |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 2  | r = 0.99459, T = 184.60, k = 0.267, b = 12.00, y = 0.267 + 12.00·x, Auftragemenge: 3 µl = 432 µg Droge   |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 2a | r = 0.99828, T = 716.07, k = -0.028, b = 14.87, y = -0.028 + 14.87·x, Auftragemenge: 5 µl = 150 µg Droge |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 3  | r = 0.99865, T = 744.72, k = 0.018, b = 6.82, y = 0.018 + 6.82·x, Auftragemenge: 2 µl = 106 µg Droge     |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 4  | r = 0.99865, T = 744.72, k = 0.018, b = 6.82, y = 0.018 + 6.82·x, Auftragemenge: 5 µl = 66.25 µg Droge   |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 4a | r = 0.99865, T = 744.72, k = 0.018, b = 6.82, y = 0.018 + 6.82·x, Auftragemenge: 5 µl = 50 µg Droge      |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 5  | r = 0.99719, T = 254.38, k = 0.010, b = 25.80, y = 0.010 + 25.80·x, Auftragemenge: 10 µl = 100 µg Droge  |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 6  | r = 0.99884, T = 430.78, k = 0.317, b = 12.00, y = 0.317 + 12.00·x, Auftragemenge: 10 µl = 100 µg Droge  |                                    |        |        |        |        |        |                                    |                |                  |                   |
| HP 1  | (µg)                                                                                                     | 0.3179                             | 0.0655 | 0.1164 | 0.0677 | 0.0706 | 0.0267 | 0.2333                             | 0.0706         | —                | 0.9687            |
| HP 2  | (µg)                                                                                                     | 0.3578                             | 0.1486 | 0.2811 | 0.0528 | 0.1403 | 0.0611 | 0.7161                             | 0.1403         | 0.0403           | 1.9384            |
| HP 2a | (µg)                                                                                                     | 0.0880                             | *      | 0.0961 | 0.0463 | 0.1297 | 0.0624 | 0.4196                             | 0.0893         | 0.0288           | 0.9602            |
| HP 3  | (µg)                                                                                                     | **                                 | **     | **     | 0.1204 | 0.2025 | 0.0560 | 0.6378                             | —              | —                | 1.0167            |
| HP 4  | (µg)                                                                                                     | **                                 | **     | **     | 0.0501 | 0.0853 | 0.0340 | 0.3681                             | —              | —                | 0.5375            |
| HP 4a | (µg)                                                                                                     | 0.3958                             | 0.0382 | 0.1259 | 0.0765 | 0.1292 | 0.0560 | 0.3513                             | 0.0560         | —                | 1.2289            |
| HP 5  | (µg)                                                                                                     | *                                  | *      | *      | *      | 0.0156 | 0.0348 | 0.0728                             | —              | 0.0776           | 0.3714            |
|       |                                                                                                          |                                    |        |        |        |        |        | 0.1706                             | —              |                  |                   |
| HP 6  | (µg)                                                                                                     | 0.4178<br>0.2586                   | *      | 0.2011 | 0.1086 | 0.1319 | 0.0486 | —                                  | 0.2486         | 0.2069           | 1.9407            |
|       |                                                                                                          |                                    |        |        |        |        |        | 0.3186                             | —              |                  |                   |



### 8.15.3. Diskussion der Ergebnisse

Wie die Tabellen 16 bis 18 zeigen, sind die Ginsenosidgehalte der Handelspräparate sehr unterschiedlich. Ursache sind die verschiedenen zur Herstellung eingesetzten Drogenmengen und die offenbar unterschiedliche Qualität der verwendeten Ginsengausgangsdroge. Bis auf HP 1, das die gepulverte Wurzeldroge enthielt, wurden alle anderen Handelspräparate durch Verdünnung der jeweiligen Rohextrakte hergestellt. Der Grad der Ginsenosidanreicherung war außerdem vom angewandten Extraktionsverfahren abhängig.

1. Einen geringfügig erhöhten Ginsenosidgehalt ergab Präparat HP 1. Da die in der Kapsel vorliegende Wurzeldroge nach derselben Methode wie die Ginseng-Seitenwurzeln extrahiert wurde, muß dem Gehalt an den Ginsenosiden  $Rg_1$  und  $Rg_2$  die Differenz von 40% hinzugechnet werden (siehe S. 32). Damit erhöht sich der Gesamtginsenosidgehalt der Droge auf 3,03%.
2. Die Präparate HP 4a und HP 6 wurden offenbar aus Drogen angefertigt, die hohe Ginsenosidgehalte besaßen.
3. Nach den verwendeten Drogenausgangsmengen (ca. 5 g) wurden die Handelspräparate HP 3 und HP 4 aus Ginsengwurzeln minderer Qualität hergestellt.
4. Dasselbe dürfte für die Handelspräparate HP 5, HP 2 und HP 2a gelten (Abb. 18, S. 64).

Ginsenoside, die nur in sehr geringer Konzentration vorlagen, wurden bei der Messung wegen Überlagerungen mit Begleitstoffen nicht erfaßt. So konnten z.B. in HP 2 und HP 4 nicht der gesamte Ginsenosidgehalt ermittelt werden. Trotzdem hatte die Ginseng-Kapsel HP 1 den höchsten Gehalt an Ginsenosiden. Von den Tonika war nur HP 6 genügend hoch konzentriert.

Den in Kapitel 2.5. angegebenen Dosierungsvorschlägen der verschiedenen Präparat-Hersteller lagen die Ginsenosidgehaltswerte von 2% bis 5% zugrunde. Diese nach anderen Methoden ermittelten Gehalte konnten von uns mit der DC-Direktauswertung nur für drei der verschiedenen Handelspräparatmuster bestätigt werden.

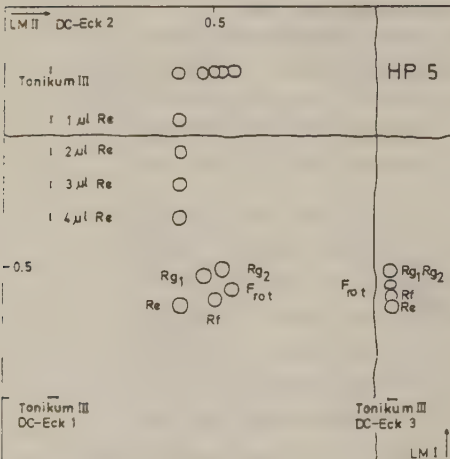
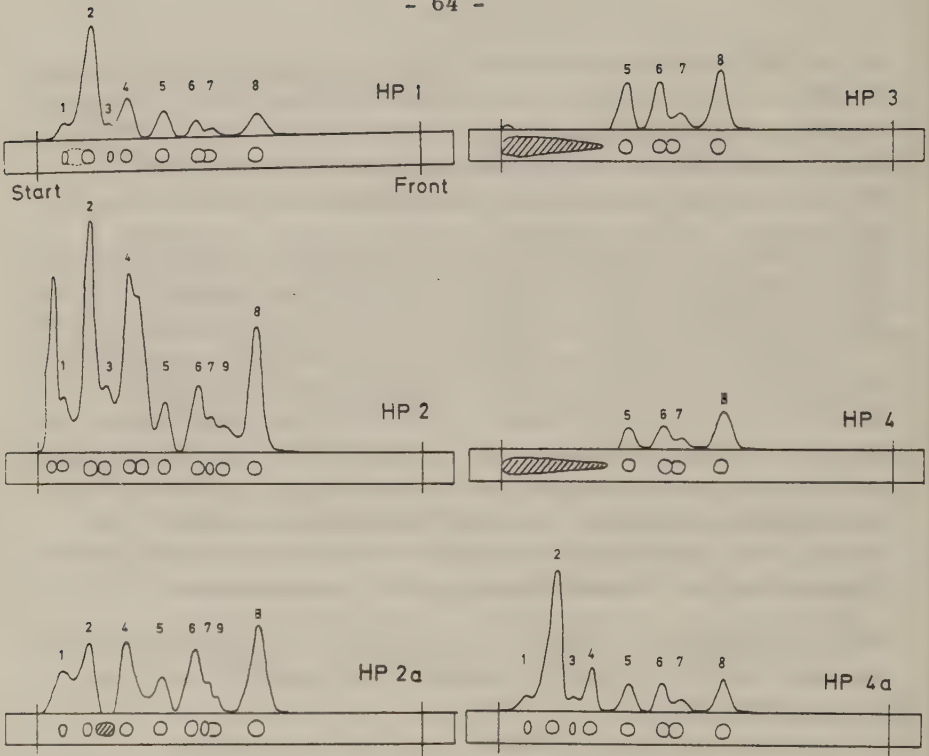
Obwohl aus pharmakologischer Sicht eine verbindliche Dosierungsempfehlung noch nicht gegeben werden kann, ist für alle Präparate die Angabe von Mindestgehalten für Drogenextrakte bzw. die Ginsenoside anzustreben. Orientiert man die Werte an den Präparaten HP 1 und HP 6, so ergibt sich bei einer täglichen Dosierung von 1 bis 2 Kapseln bzw. 10 ml bis 20 ml Tonikum eine Ginsenosidkonzentration von ca. 10 mg bis 20 mg. Diese Menge liegt niedriger als experimentell im Tierversuch und im klinischen Versuch ermittelt wurde. Hier muß allerdings berücksichtigt werden, daß in den klinischen Testen vorwiegend Ginsengextrakte ohne definierten Ginsenosidgehalt zur Anwendung kamen.

Ein Ginseng-Handelspräparat sollte nach unserer Berechnung und üblicher Dosierung einen Mindestginsenosidgehalt von 10 mg/Dosis gewährleisten.

T a b e l l e 18

Ginsenosidgehalt in Handelspräparaten (HP)

| Handelspräparat |                       | Deklaration =<br>g Droge | Ginsenosid-<br>gehalt (mg) |
|-----------------|-----------------------|--------------------------|----------------------------|
| HP 1            | 1 Kapsel              | 0.350                    | 9.687                      |
| HP 2            | 1 Kapsel              | 0.180                    | 0.808                      |
| HP 2a           | 100 mg Trockenextrakt | 0.300                    | 1.921                      |
| HP 3            | 100 ml Tonikum I      | 5.30                     | 47.955                     |
| HP 4            | 100 ml Tonikum II     | 5.30                     | 42.990                     |
| HP 4a           | 100 ml Fluidextrakt   | 100.0                    | 2457.8                     |
| HP 5            | 100 ml Tonikum III    | 5.0                      | 18.570                     |
| HP 6            | 100 ml Tonikum IV     | 5.0                      | 97.035                     |



GINSENOSID BZW.  
FLECK BEI GINSENOSID

- 1 RX, Ra
- 2 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>
- 3 Ro
- 4 Rc
- 5 Rd
- 6 Re
- 7 Rf
- 8 Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>
- 9 Frot
- 10 UNBEKANNTES SAPONIN

Abb. 18

DC-Ortskurven der Ginseng-Handelspräparate

9. Neue Ginseng-Bestimmungen, die nach Beendigung der vorliegenden  
experimentellen Arbeit erschienen

1. Die quantitative Aescin-Bestimmung von SCHLEMMER u. BOSSE (67) wurde von HONERLAGEN u. TRETTER (87) modifiziert und auf die Ginseng-Saponine angewandt. Nach der Methode HONERLAGEN wird die Droge mit 50%igem Methanol extrahiert, anschließend der Extrakt zur Trockne eingedampft und der Rückstand nach Aufnahme in 0.1 N Salzsäure mit einer salzsäuregesättigten Chloroform-Butanol-Mischung ausgeschüttelt. Die Chloroform-Butanol-Lösung wird zur Trockne gebracht, der Rückstand in Eisessig aufgenommen und ein bestimmter Teil davon nach Zugabe des Reagenzes bei 520 nm photometriert. Als Bezugssubstanz wird Ginsenosid  $R_{g1}$  verwendet.

Ob die Ginsenoside durch die Zugabe von Säuren nicht eine Zuckerabspaltung erfahren, d.h. ob zur Messung in jedem Fall die genuinen Ginsenoside vorliegen und die abgespaltenen Zucker nicht zusätzlich bestimmt werden, ist fraglich. Falls eine solche Hydrolyse der säurelabilen Ginsenoside bei der Bestimmung auftritt, muß die Umrechnung auf zwei Saponine in jedem Fall zu falschen Werten führen.

Wir ermittelten nach dieser Methode für die Ginseng-Seitenwurzeln einen %-Gehalt von 18%, d.h. dieser Wert liegt 4% höher als der durch DC-Fluorometrie der einzelnen Ginsenoside als Summe bestimmte Gehalt. Der überhöhte Wert der Honerlagen-Methode dürfte durch das angewendete Gesamtbestimmungsverfahren und die gewählte Extraktionsmethode bedingt sein. Zwar wird durch die Extraktion mit 50%igem Methanol keine vollständige Extraktion der Ginsenoside erreicht (siehe Kapitel 8.9, S.32), doch wird dieser Verlust offenbar durch Begleitstoffe mehr als kompensiert. DC-Untersuchungen des Methanolextraktes zeigen nämlich deutlich das Vorliegen von zusätzlichen Steroiden und Zuckern, die bei der photometrischen Methode ebenfalls erfaßt werden.

2. SHIBATA u.Mitarb. (89) entwickelten zur quantitativen Bestimmung eine von TANIMURA (96) zur Trennung der Aminosäurederivate angewandte "Droplet Countercurrent Chromatography" (DCC), die auf dem Prinzip der Flüssig-Flüssig-Gegenstromverteilung beruht. Die Spektrophotometrie erfolgt nach Umsetzung der Ginsenosidlösungen mit dem Phenol-Schwefelsäurereagenz bei 490 nm. Abgesehen davon, daß das Reagenz sehr unspezifisch ist, ist die Methode wegen des großen zeitlichen und apparativen Aufwandes nicht zur Routineanalyse in jedem Industrielabor geeignet.
3. Eine zweite, ebenfalls von SHIBATA u.Mitarb. (90) ausgearbeitete Methode benützt, ähnlich der unsrigen, die DC-Fluorometrie. Zum Detektieren der in verschiedenen chloroformhaltigen Lösungsmittelgemischen aufgetrennten Ginsenoside wird eine 10%ige Schwefelsäurelösung aufgesprüht. Die aufgetrennten Punkte werden einzeln bei 525 nm bzw. 760 nm fluorometrisch gemessen. Abgesehen davon, daß die Sprühmethode, wie bereits festgestellt, zu Fehlern führt, ist die Verwendung von 10%iger Schwefelsäure nicht spezifisch für Saponine. Über den  $R_f$ -Bereich verteilte Flecke anderer Substanzgruppen können miterfaßt werden und zu Verfälschung der Ergebnisse führen. Meßwertschwankungen können sich außerdem dadurch ergeben, daß die mit Schwefelsäure besprühte Kieselgelschicht schon während der Messung Feuchtigkeit anzieht. Außerdem ist dieses densitometrische Verfahren nur für Reinsubstanzen und Ginseng-Drogenextrakte geeignet. Es ist ungeeignet zur quantitativen Analyse von Ginseng-Handelspräparaten, da die hier zugesetzten Begleitstoffe durch die Detektion mit 10%iger Schwefelsäure in noch größerem Maß stören, als dies mit Liebermann-Burchard-Reagenz der Fall ist.
4. Ein anderes DC-Direktauswerteverfahren, das von TANAKA u. Mitarb. (91) ausgearbeitet wurde, läßt die Ginsenoside mit einer 5%igen Schwefelsäure in Wasser/Äthanol hydrolysieren und bestimmt das Aglykongemisch nach Umsetzung mit  $\beta$ -Naphthoylechlorid in Pyridin als  $\beta$ -Naphthoate, die nach DC-Auftrennung

densitometrisch bestimmt werden. Es wird jeweils auf ein Saponin der Panaxadiol- bzw. -triolgruppe umgerechnet. Diese Methode eignet sich wiederum nur zur Feststellung des Gesamtginsenosidgehaltes in der Droge oder im Extrakt. Daß die Hydrolyse schlecht reproduzierbar ist, wurde an anderer Stelle bereits festgestellt. Ob die Umsetzung der Ginseng-Aglykone zu den  $\beta$ -Naphthoatderivaten stöchiometrisch verläuft, wurde nicht geprüft.

5. SOLDATI u. STICHER (97,71) sowie TANAKA u. Mitarb. (98) verwenden die HPLC-Methode zur Ginseng-Bestimmung. Erste Versuche, diese Methode zu reproduzieren, brachten wenig zufriedenstellende Ergebnisse, da die Retentionszeiten der Peaks nicht eine eindeutige Zuordnung zuließen. Eine Abwandlung der ersten Versuche wurde kürzlich von STICHER (99) auf einem Vortrag vorgestellt, womit die Trennung der Ginsenoside (außer Ginsenosid Re und Rg<sub>1</sub>) in einem Lösungsmittelsystem gelungen zu sein scheint. Für die Trennung der überlagerten Ginsenoside ist es jedoch immer noch nötig, ein zweites Lösungsmittelgemisch zu verwenden. Zur Reinigung wurden Extrelutsäulen verwendet, bei denen lt. Autor kein Verlust an Ginsenosiden auftritt. Falls diese Optimierung gelungen ist, kann die HPLC-Methode neben unserer DC-fluorometrischen Methode als das derzeit beste quantitative Analysenverfahren angesehen werden.

## E L E U T H E R O C C O C C U S   S E N T I C O S U S

### ALLGEMEINER TEIL

#### 10. Eleutherococcus in der Volksmedizin

Die im östlichen Teil der UdSSR, besonders in Sibirien, aber auch in Korea, Japan und China wild wachsende Pflanze aus der Familie der Araliaceen wird seit langem in der asiatischen Volksmedizin als Heilmittel wie Panax ginseng C.A.MEYER verwendet. Als Eleutherococcus Eingang in den europäischen Drogenhandel gefunden hatte, fand der Extrakt des Wurzelstockes hauptsächlich als Tonikum und "Adaptogen" Verwendung (6). Trotzdem von BREKHMAN einige Inhaltsstoffe isoliert werden konnten, sind nur wenige pharmakologische Untersuchungen mit Reinstoffen durchgeführt worden. Die meisten Befunde stammen von Extrakten. Danach scheint eine gewisse Übereinstimmung in der Wirksamkeit mit dem verwandten Panax ginseng vorzuliegen. Im Gegensatz zu Ginseng findet man Eleutherococcus nur in chinesischen Arzneipflanzenbüchern, in der Drogenkunde von HOPPE (16) und im Nachtrag zur sowjetischen Pharmakopöe (11). Voraussetzung für eine evtl. Aufnahme der Droge in andere Arzneibücher sind neben weiteren pharmakologischen und klinischen Untersuchungsergebnissen gute analytische Bestimmungsmethoden.

#### 11. Botanik

Die volkstümlichen, aber auch die botanischen Namen für Eleutherococcus sind verwirrend vielfältig. Eleutherokokk, Teufelsbusch, Acanthopanax, sibirischer Ginseng oder Touch me not sind volkstümliche Begriffe (100, 101). Koreanische Autoren (102) setzen Eleutherococcus senticosus mit Acanthopanax senticosus, Acanthopanax henryi oder Eleutherococcus koreanus gleich. HUI LIN LI (103) macht für die chinesischen Araliaceen folgenden Einteilungsvorschlag (Abb. 19, S. 69).

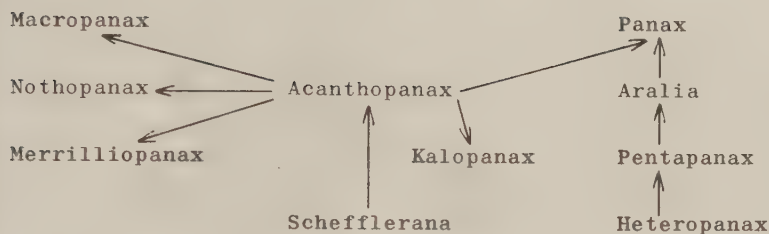


Abb. 19

Phytogenetische Zusammenhänge der Araliaceen-Gattungen  
nach HUI-LIN LI (103)

*Eleutherococcus senticosus* MAXIM., der Stacheleleutherococcus (Araliaceae, Araliales) wächst in großer Menge in Sibirien. Es ist ein mehrjähriger Strauch, der bis zu 3 m hoch wird, hauptsächlich in 500 m über dem Meer liegenden Waldgebieten und an Waldrändern zu finden ist, aber auch an zerklüfteten Abhängen des freien Geländes, in Überschwemmungsgebieten von Flüssen und Bächen und an den Rändern von Wasserscheiden. Zur Gewinnung der Fluidextrakte wird nur der hellbraune und faserig-leichte Wurzelstock verwendet. Die Droge selbst wird nicht exportiert. In den Handel gelangt nur der Fluidextrakt. Abb. 20, S. 70, zeigt eine Übersicht über die Pflanzenteile.



1 blühender Zweig

2 Wurzelsproßling

3 Knospe

7 Samen

4 Blüte

5 Blütenstand

6 Frucht

Abb. 20

Übersicht über die Pflanzenteile bzw. Wurzeldroge

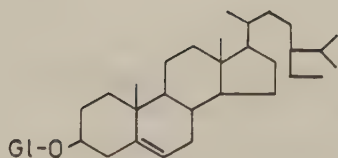
## 12. Chemie der Inhaltsstoffe

Die bisher isolierten Inhaltsstoffe werden als Eleutheroside bezeichnet. Es handelt sich dabei um O-Glykoside von:

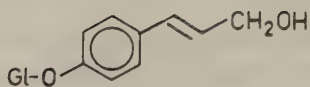
|                                   |                                     |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| $\beta$ -Sitosterol = Daucosterol | = Eleutherosid A (104)              |
| Sinapinalkohol                    | = Eleutherosid B (105)              |
| Isofraxidin                       | = Eleutherosid B <sub>1</sub> (106) |
| Syringaresinol                    | = Eleutherosid D und E (107)        |
| und                               |                                     |
| Äthanol                           | = Eleutherosid C (6)                |

Bei den anderen Glykosiden (Eleutheroside I, K, L und M) handelt es sich um Saponine (105), die sich von der Oleanol-säure ableiten. Die Eleutheroside I und K werden den sauren Monodesmosiden, die Eleutheroside L und M den neutralen Bis-desmosiden zugeordnet. Eleutherosid E ist mit Acanthosid D, Eleutherosid K mit  $\beta$ -Hederin und Eleutherosid M mit Hedera-cosid B identisch (108). Außerdem sind Sesamin, Syringenin, Chlorogensäure, Glucose und Fructose enthalten (92). Neben den Phenolglykosiden (Eleutheroside B, B<sub>1</sub>, D und E) konnten von den isomeren Eleutherosiden D und E das Aglykon Syringa-resinol und von Eleutherosid B<sub>1</sub> das Isofraxidin nachgewiesen werden. Für die Ginsenoside A, B, C, D, E und die weiteren Glykoside unbekannter Struktur F und G wird ein Mengenver-hältnis von 8:30:10:12:4:2:1 (104) angegeben.

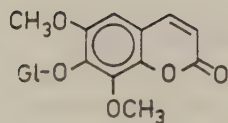
Die Glykoside der Eleutherococcuswurzel liefern nach Hydrolyse Galakturonsäure, Glucose, Arabinose, Galactose, Rhamnose und Xylose (43). Eine Untersuchung über Vorkommen der Eleuthero-side in den einzelnen Pflanzenteilen zeigt, daß das Eleuthero-sid B hauptsächlich im Stamm und in der Wurzelrinde (109), die Eleutheroside A, C, D und E vorwiegend in der Rinde des Stammes und im Mark zu finden sind. In Abb. 21, S. 72, sind die Strukturen der Eleutherococcus-Inhaltsstoffe angegeben.



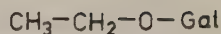
Eleutherosid A



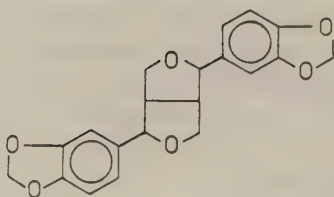
Eleutherosid B



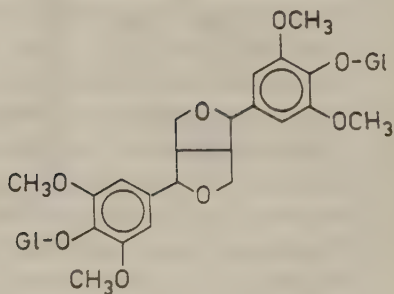
Eleutherosid B<sub>1</sub>



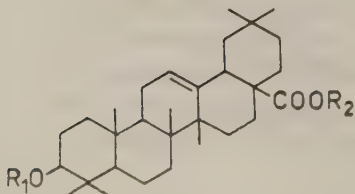
Eleutherosid C



Sesamin



Eleutherosid D, E



Eleutherosid I  $R_1 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 4 \alpha\text{-L-Ar 1}$   
 $R_2 = \text{H}$

Eleutherosid K  $R_1 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 2 \alpha\text{-L-Ar 1}$   
 $R_2 = \text{H}$

Eleutherosid L  $R_1 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 4 \alpha\text{-L-Ar 1}$   
 $R_2 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 4 \beta\text{-D-Gl 1} \rightarrow 6 \beta\text{-D-Gl 1}$

Eleutherosid M  $R_1 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 2 \alpha\text{-L-Ar 1}$   
 $R_2 = \alpha\text{-L-Rh 1} \rightarrow 4 \beta\text{-D-Gl 1} \rightarrow 6 \beta\text{-D-Gl 1}$

Zeichenerklärung: Gal = Galactopyranosyl; Gl = Glucopyranosyl; Rh = Rhamnopyranosyl;  
 Ar = Arabinopyranosyl

Abb. 21

Formelbilder der Inhaltsstoffe von *Eleutherococcus senticosus*

### 13. Pharmakologie

In Tabelle 19 sind die bisher ermittelten pharmakologischen Wirkungen zusammengestellt.

T a b e l l e 19

Wirkungen des Eleutherococcus-Extraktes auf den Organismus

---

|                                                                         |                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Wirkung auf ZNS                                                      | erregend (110)<br>Steigerung der Proteinbiosynthese (111)<br>Beschleunigung der Wachstumsrate (111)<br>verzögerte Inhibierung der RNA-Polymerase (112)                                      |
| 2. Fettstoffwechsel                                                     | Erhöhung der Erythrozytenzahl(113)<br>Verminderung der Cholesterinkonzentration (114)                                                                                                       |
| 3. Kohlenhydratstoffwechsel                                             | Wirkung auf Blutzucker, Muskel- und Leberglykogenwertezunahme (114)                                                                                                                         |
| 4. Normalisierung des Blutdruckes (114)                                 |                                                                                                                                                                                             |
| 5. Verstärkung der Sensitivität der Haut gegenüber UV-Bestrahlung (114) |                                                                                                                                                                                             |
| 6. Antitumorwirkung                                                     | Hemmung des Wachstums, Eindämmung des Tumorherdes, Verringerung der Metastasenzahl, weniger Gewichtsverlust und höhere Leukozytenzahl bei gemeinsamer Applikation von Zytostatika (115,116) |
| 7. Antivirale Aktivität (117)                                           |                                                                                                                                                                                             |

---

Es traten bei Einnahme von Eleutherococcus-Extrakt und Eleutherococcusglykosiden in einem Zeitraum von zwei Monaten keine Toxizitätserscheinungen auf. BREKHMAN gibt als LD<sub>50</sub>-Wert 31 g/kg an (118).

14. DC-Analyse des Extraktes von *Eleutherococcus senticosus*

Der DC-Nachweis aller bisher bekannten *Eleutherococcus*-Inhaltsstoffe in einem Laufmittelsystem ist nicht möglich. Wir verwendeten daher zur Auftrennung der hydrophilen *Eleuthero-*side B, D bzw. E das System Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4) und für die Aglykone und mehr lipophilen Verbindungen, wie z.B. Sesamin, Isofraxidin und Oleanolsäure das System IV Toluol-Äthylacetat (3:1) (Abb. 22).

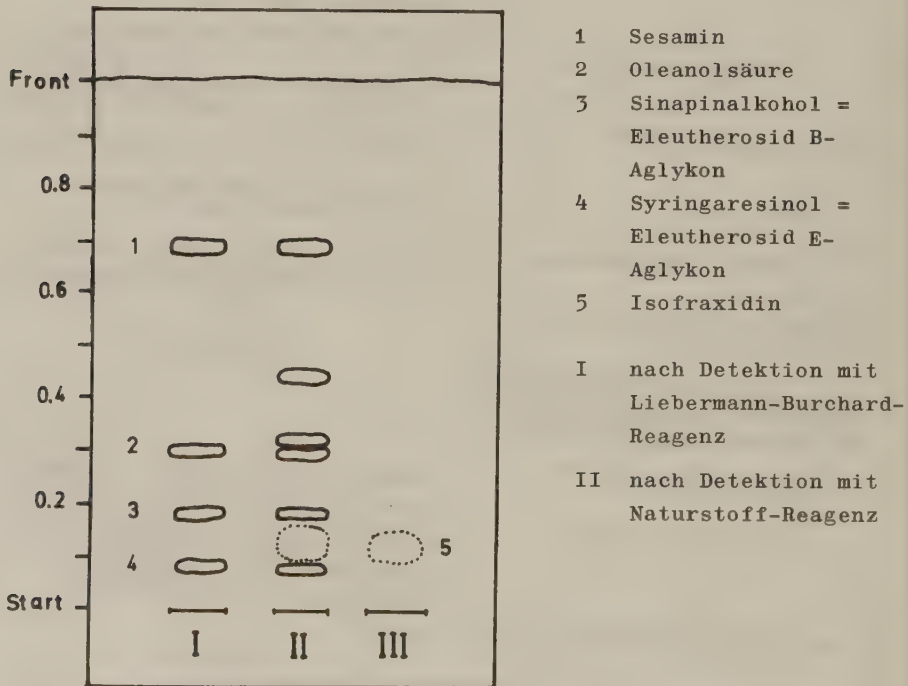


Abb. 22

DC der lipophilen Verbindungen in LM IV (nach HEUR) (119)

Die DC-Zuordnung der wichtigsten Inhaltsstoffe im Handels-  
extrakt gelang mit Hilfe der von HEUR(119) in reiner Form  
isolierten Substanzen. So konnten Eleutherosid B (Syringin)  
und Eleutherosid E ((-)-Syringaresinoldiglycosid) im Lauf-  
mittelgemisch III Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4) (Abb.23)  
lokalisiert werden. Bei den Verbindungen im  $R_f$ -Bereich 0.5 bis  
0.8 handelt es sich sehr wahrscheinlich um Lignan- bzw. Coni-  
ferylglykoside.

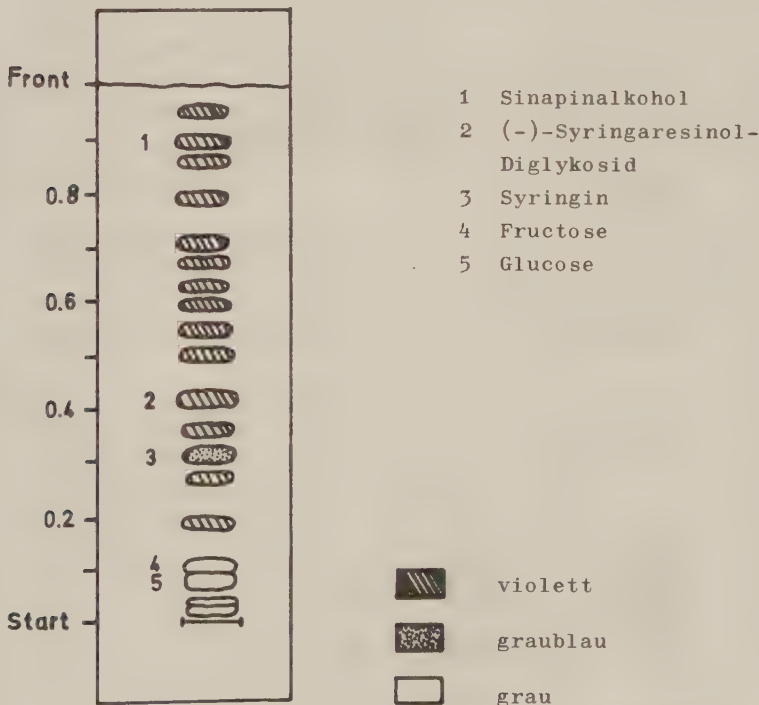


Abb. 23

DC des Handelsextraktes von Eleutherococcus nach Auftrennung  
im LM III (Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4)), Detektion:  
Liebermann-Burchard-Reagenz

In dem bereits für die Ginsenoside verwendeten LM I Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5) trat bei  $R_f$  0.37 eine im UV blau fluoreszierende Zone auf. Nach Eluierung aus der Kieselgelschicht und Hydrolyse zeigte diese gleiches DC-Verhalten wie Isofraxidin ( $R_f$  0.75). Möglicherweise handelt es sich bei der Substanz vom  $R_f$  = 0.37 um das Cumaringlykosid Eleutherosid  $B_1$ . Im LM V Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (10:2:3) konnten mit Hilfe von Reinsubstanzen Isofraxidin und Chlorogensäure identifiziert werden (Abb. 24).

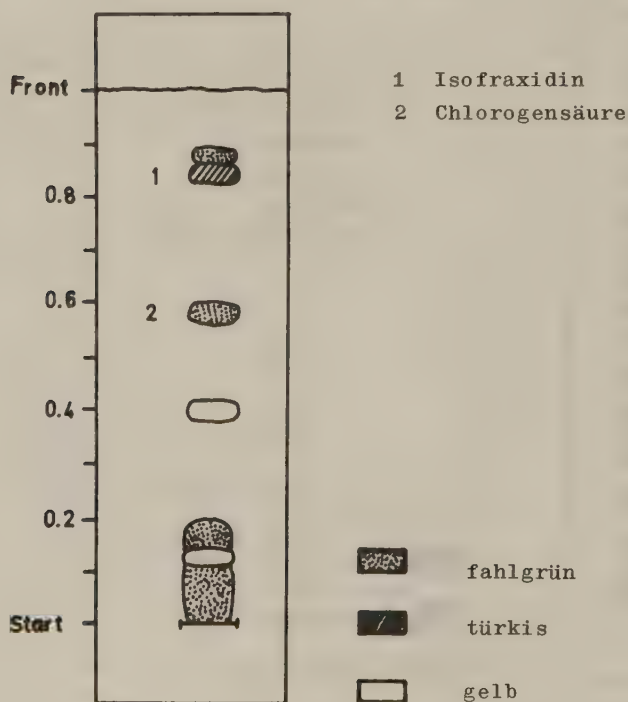


Abb. 24

DC der im UV-Licht fluoreszierenden Verbindungen von Eleutherococcus

Laufmittel: Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (10:2:3)

Detektion: Naturstoffreagenz-Polyäthylenglykol

Es gelang jedoch nicht, die Gruppe der Triterpensaponine im Extrakt nachzuweisen. Vermutlich liegen diese in der Droge nur in sehr geringer Konzentration vor und werden im DC zudem von den im Rohextrakt in hoher Konzentration vorliegenden Zuckern Glucose und Fructose überdeckt. Auch eine Hydrolyse des Eluates der Kieselgelzonen, in denen die Eleutheroside I, K, L und M zu erwarten waren, ergab keine Oleanolsäure.

Bei den nach LM I-Auftrennung im mittleren  $R_f$ -Bereich liegenden Substanzen dürfte es sich um die z.T. beschriebenen Lignanglykoside bzw. Coniferylglykoside handeln, da sie sich mit 10%iger Schwefelsäure rot bis violett anfärben ließen. Eine Anreicherung der Lignane gelang durch Ausschütteln des eingeeengten, mit Äther vorextrahierten Eleutherococcus-Extraktes mit Äthylacetat und anschließender Kieselgel-Säulenchromatographie.

Als Detektionsmöglichkeit für die strukturell verschiedenen Inhaltsstoffe des Eleutherococcus-Gesamtextraktes eigneten sich 10%ige Schwefelsäure, Liebermann-Burchard-Reagenz und Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz.

#### 15. DC-Untersuchung von Eleutherococcus- und Panax-Extrakten

Zur DC-Unterscheidung von Eleutherococcus- und Ginseng-Extrakten verwendet man am zweckmäßigsten das Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz. Während sich im LM III (Abb. 25, S. 78) die Eleutherococcus-Inhaltsstoffe über den ganzen  $R_f$ -Bereich verteilen, liegt die Hauptmenge der Ginsenoside im Startbereich bis zum  $R_f$  0.20. Alle Zonen färben sich mit dem Reagenz blau an. Mit dem Liebermann-Burchard-Reagenz erhält man für die Eleutherococcus-Inhaltsstoffe rotviolette oder blaugraue Farben, während die Ginsenoside rosa bis violett gefärbt erscheinen. Im UV (360 nm) gaben die Ginsenoside eine charakteristische orange-rosa bzw. violett-rosa Fluoreszenz. Bei Eleutherococcus erscheint nur das Eleutherosid B mit ebenfalls intensiver Fluoreszenz.

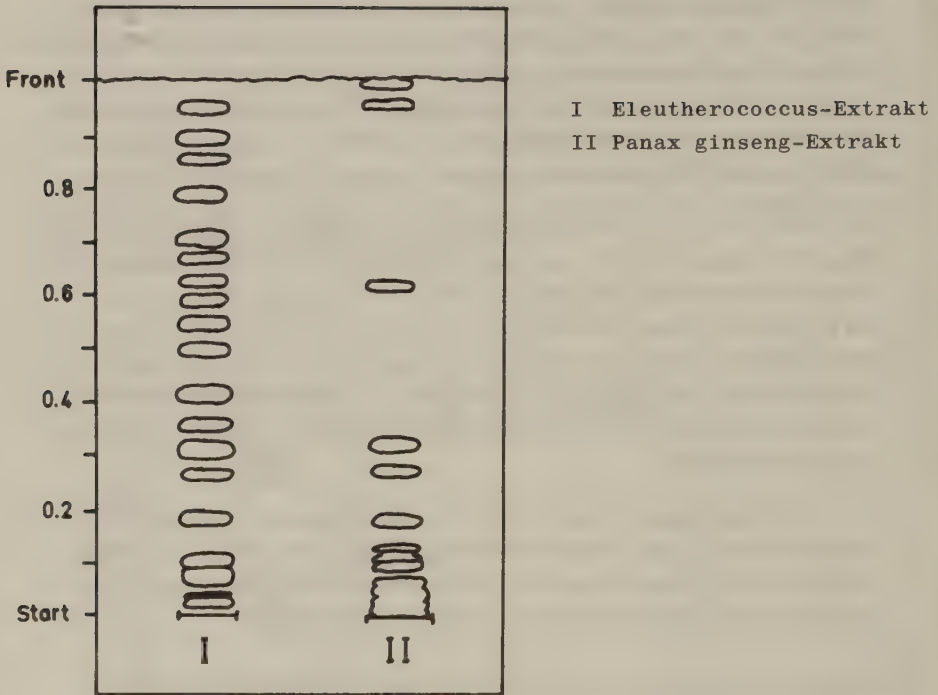


Abb. 25

DC-Vergleich von Eleutherococcus mit Ginseng in LM III

Laufmittel: Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4)

Detektion: Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz

Verschieden davon war die Auftrennung der Inhaltsstoffe beider Drogen im LM I (Abb. 26, S. 79). In diesen verteilten sich die Ginsenoside, gut voneinander getrennt, über den  $R_F$ -Bereich 0 bis 0.7, während die Inhaltsstoffe von Eleutherococcus hauptsächlich im unteren  $R_F$ -Bereich (bis  $R_F$  0.5) lagen.

In diesem Laufmittel war auch deutlich zu erkennen, daß beide Drogenextrakte Glucose und Fructose bzw. Saccharose enthielten. Diese färbten sich mit dem Phosphormolybdän-säure-Anisaldehyd-Reagenz dunkelblau, mit Liebermann-Burchard-Reagenz grau an.

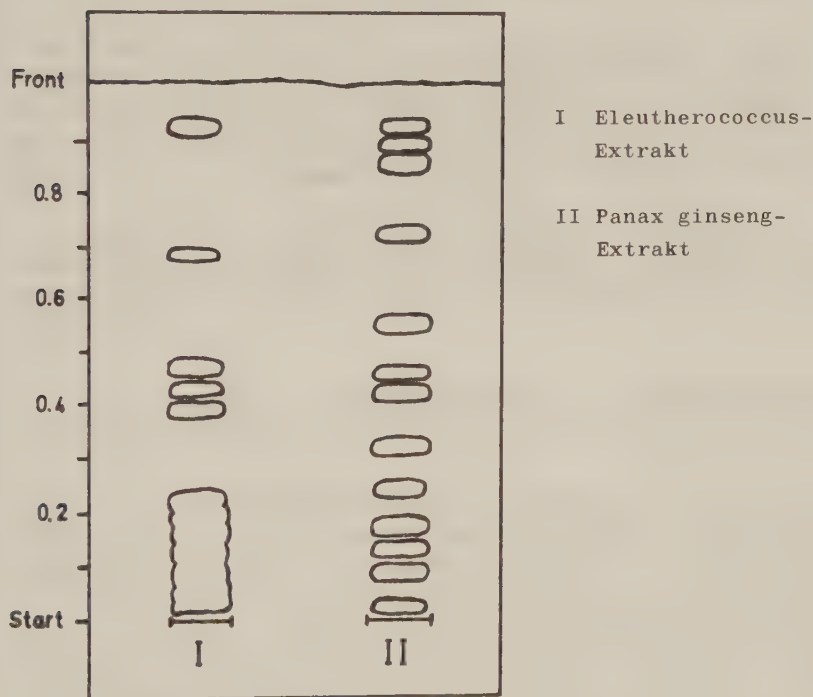


Abb. 26

DC-Vergleich von Eleutherococcus und Ginseng-Extrakt in LM I  
 Laufmittel: Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5) Oberphase  
 Detektion: Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz

Zur Unterscheidung des Eleutherococcus-Handelsextraktes und des Methanolextraktes von Panax ginseng ist auch die Entwicklung in LM V (Abb. 24, S. 76) geeignet. Wurde die DC-Platte mit Naturstoffreagenz und Polyäthylenglykollösung (80) detektiert, traten bei Eleutherococcus mit starker Intensität die Chlorogensäure ( $R_f$  0.5) und Isofraxidin ( $R_f$  0.9) hervor. Die Ginsengdroge enthielt nur sehr wenig Chlorogensäure.

Wurde die Äthylacetatfraktion (= Lignanfraktion) von Eleutherococcus mit der gleichen von Panax ginseng verglichen, ergaben sich gute Unterscheidungsmöglichkeiten im LM III und LM I. Mit dem LM III traten die Zonen der Lignanglykoside im mittleren  $R_f$ -Bereich (0.35 bis 0.8) auf.

Die DC-Analyse ermöglicht damit eine sichere und schnelle Unterscheidung beider Drogenextrakte und den Nachweis einer evtl. Verfälschung oder Verwechslung der einen Droge durch die andere.

#### 16. Identitätsnachweis von Eleutherococcus senticosus durch Densitometrie

Wie bei der Ginsengdroge wurde auch hier versucht, für den Extrakt eine graphische Aufzeichnung der charakteristischen Inhaltsstoffe zu erreichen, bzw. die einzelnen Verbindungen quantitativ zu bestimmen. Im Vorversuch wurde zunächst die Wellenlänge ermittelt, bei der die meisten mit Liebermann-Burchard-Reagenz detektierbaren Zonen (entwickelt in LM III) eine deutliche Absorption des eingestrahnten UV-Lichtes zeigten. Die besten Ergebnisse brachte eine spektralphotometrische Absorptionsmessung in Remission bei der Exzitations- bzw. Emissionswellenlänge 280 nm, Sample Sensitivity 3.0, Blende 1 x 6 mm. Wegen fehlender Fluoreszenz der meisten Inhaltsstoffe konnten nicht die gleichen Bedingungen wie bei Panax ginseng verwendet werden.

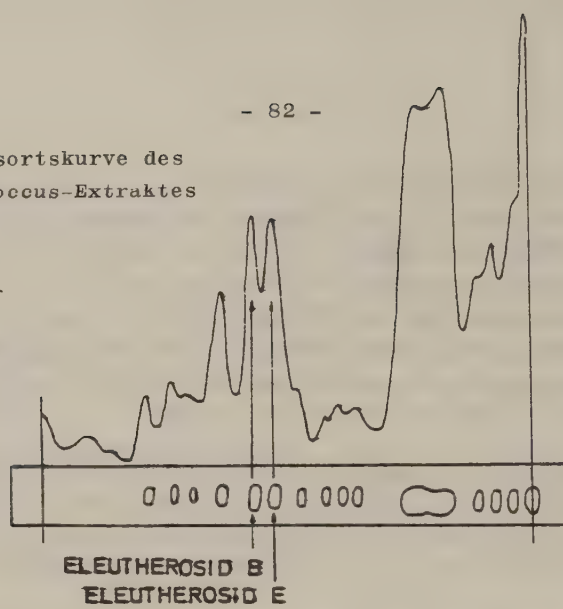
Die Ortskurven von Eleutherococcus-Handelsextrakt, -Lignan-

fraktion und Ginsengextrakt zeigten die gleichen deutlichen Unterschiede (Abb. 27, S. 82), wie sie bereits im DC festgestellt wurden. Die Tatsache, daß die Ortskurve der Lignanfraktion nicht die Grundlinie erreichte, ist durch Gerbstoffe zu erklären, die weder durch Bleiacetatfällung, noch durch Aluminiumoxyd- oder Sephadexsäule zu entfernen waren. Im Ginsengextrakt war die Anhäufung der Ginsenoside im unteren  $R_f$ -Bereich verantwortlich für die Bildung von breiten Peaks.

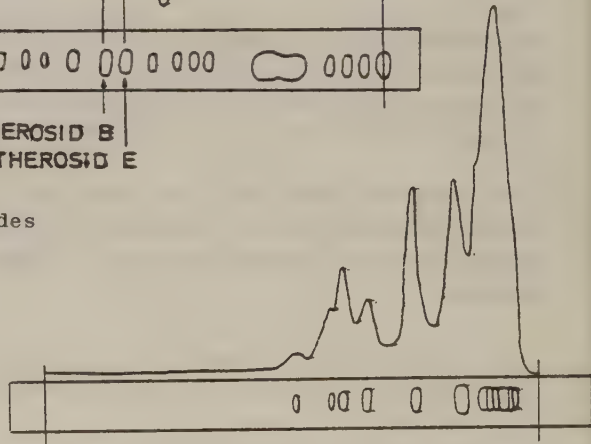
Trotz der relativ unspezifischen Detektionsweise und Meßmethode ist es somit möglich, den Extrakt und die Äthylacetatfraktion von *Eleutherococcus senticosus* zu charakterisieren und ihn von einem Ginsengextrakt zu unterscheiden.

Eine Quantifizierung der Hauptinhaltsstoffe im *Eleutherococcus*-Extrakt ist erst nach entsprechender Vorreinigung, Optimierung der Trennmethode und Vorliegen von Testsubstanzen möglich.

Absorptionsortskurve des  
Eleutherococcus-Extraktes



Absorptionsortskurve des  
Ginseng-Extraktes



Absorptionsortskurve der  
Eleutherococcus-  
Äthylacetatfraktion

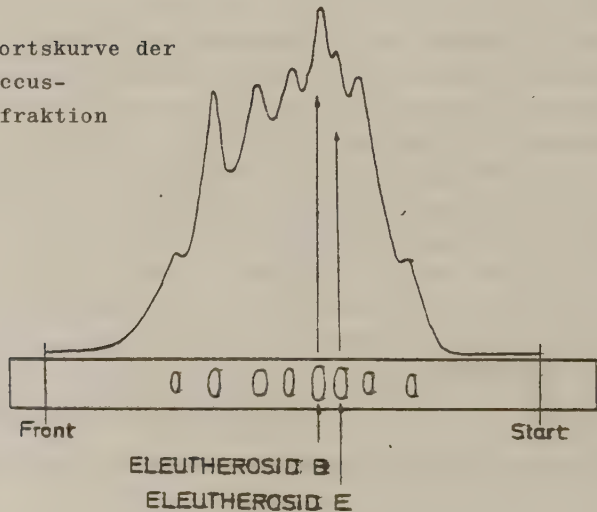


Abb. 27

DC-Ortskurven des Eleutherococcus- und Ginseng-Extraktes und der  
Eleutherococcus-Äthylacetatfraktion

## Z U S A M M E N F A S S U N G

Für die Ginsenoside der Panax ginseng-Wurzel Droge wurde eine quantitative Bestimmungsmethode mittels DC-Fluoreszenz-Spektrophotometrie direkt aus den Drogenextrakten entwickelt, die eine routinemäßige Analyse der Ginsengdroge und ihrer Zubereitungen erlaubt. Für Handelspräparate wurde die Methode durch eine zweidimensionale DC entsprechend modifiziert. Da das Verfahren keine Vorreinigung der Extrakte benötigt, ist das Bestimmungsverfahren der nach Abschluß dieser Arbeit veröffentlichten HPLC-Methode überlegen.

Die zur Durchführung der Analysenmethode nötigen Voruntersuchungen führten zur Festlegung folgender DC-Parameter: DC-Fertigplatte Kieselgel 60 F<sub>254</sub> der Fa. Merck, Laufmittelgemisch(I) n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5, Oberphase), keine Kammersättigung und zur Detektion der Ginsenoside das "Tauchverfahren" mit modifiziertem Liebermann-Burchard-Reagenz.

Für die einzelnen Ginsenoside wurden die substanzspezifischen Exzitations- und Emissionsmaxima in Abhängigkeit von der Zeit nach der Detektion ermittelt und unter Bezug auf das Ginsenosid Re die entsprechenden Korrekturfaktoren errechnet.

Die Wiederfindungsrate für die Ginsenoside lag bei 95.6% bzw. 97%.

Ein Vergleich der durch Methanol- und Wasserextraktion aus der Droge extrahierten Ginsenosidmengen ergab einen um 0.08% höheren Gehalt für die wässrige Extraktionsmethode. Bei dieser trat ein zusätzlicher Fleck ( $F_{rot}$ ) auf, der als vermutliches Saponin-Umwandlungsprodukt in die Messung einzubeziehen wäre. Wegen der im Wasserextrakt in hohem Maße vorhandenen Begleitstoffe wurden für die quantitativen Bestimmungen aber die Methanol-Extrakte gewählt.

Die Konzentrationen der Ginsenoside  $Rb_1$  und  $Rb_2$ , die sich im Laufmittel I nicht trennen ließen, können im Laufmittel (II) Chloroform-Methanol-Wasser (64:36:8) getrennt und einzeln bestimmt werden. Auch das bisher noch nicht strukturell aufgeklärte Ginsenosid Ra gelang es auf diese Weise abzutrennen und dessen Gehalt getrennt zu ermitteln.

Durch Ermittlung der charakteristischen DC-Fingerprints bzw. der charakteristischen Ginsenosid-Zusammensetzungen ließen sich Extrakte, hergestellt aus "Haupt- und Seitenwurzeln" von *Panax ginseng*, aus der sog. "roten" Ginsengwurzel und auch aus anderen *Panax*-Arten (*Panax pseudoginseng*, *Panax quinquefolius*, *Panax japonicus*) voneinander abgrenzen bzw. unterscheiden.

Durch die Bestimmung der Ginsenoside in verschiedenen Handelspräparaten (Ginseng-Handelsextrakte, -Tonika, -Gelatinekapselfen), z.T. durch Anwendung der zweidimensionalen DC-Methode, wurde ein Überblick über die derzeit zur Applikation kommenden Ginsenosidmengen pro Dosis gewonnen.

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurden auch für die charakteristischen Inhaltsstoffe von Eleutherococcus senticosus-Extrakten (Lignane, Cumarine, Phenolcarbonsäuren) geeignete DC-Methoden ausgearbeitet. Sie erlauben an Hand bestimmter DC-Fingerprints den eindeutigen Nachweis von *Eleutherococcus*-Zubereitungen und eine Unterscheidung von Ginseng- und *Eleutherococcus*-Extrakten.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 17. Herkunft des Pflanzenmaterials

#### Herkunft der Droge

Die Panax-Drogen wurden vom Office of Monopoly des Central Research Institut in Seoul, Südkorea, von der Showa Universität in Tokio, Japan, und von den Firmen Blembel (Hamburg) Caesar und Loretz (Hamburg) und Müggenburg (Hamburg) zur Verfügung gestellt.

#### Herkunft der Handelsware

Drogenextrakte von Panax ginseng und Eleutherococcus senticosus sowie Ginseng-Handelspräparate stammten von den Firmen Hermes (Großhesselohe), Klosterfrau (Köln), Scheurich (Appenweier) und Zirkulin (Herdecke).

### 18. Herkunft der Vergleichssubstanzen

Reinsubstanzen der Ginsenoside erhielten wir von den Professoren Shibata (Tokio), Shoji (Tokio), Tanaka (Hiroshima) und Woo (Seoul) und von der Firma Scheurich (Appenweier). Die Vergleichssubstanzen Chlorogensäure, Fructose, Glucose, Isofraxidin, Oleanolsäure, Saccharose und Sesamin stammten aus der Testsubstanzsammlung des Instituts für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München.

### 19. Allgemeine Arbeitsmethoden

#### 19.1 Dünnschichtchromatographie

##### 19.1.1 Adsorbens

- a) DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F<sub>254</sub> Schichtdicke 0.25 mm, 20 x 20 cm, Fa. Merck
- b) HPTLC-Fertigplatten Kieselgel 60 F<sub>254</sub> Schichtdicke 0.25 mm, 10 x 20 cm, Fa. Merck

### 19.1.2 Laufmittelsysteme

#### a) eindimensional

1. LM I            n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5) Ober-
2. LM II           Chloroform-Methanol Wasser (64:36:8) phase
3. LM III          Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4)
4. LM IV           Toluol-Äthylacetat (3:1) (Aglykone)
5. LM V            Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (10:2:3)
6. LM VI           Chloroform-Methanol (97.5:2.5) (Isofraxidin)
7. LM VII          Chloroform-Methanol-Wasser (64:40:8) (Zucker)

#### b) zweidimensional

1. Laufrichtung: LM I
2. Laufrichtung: LM II

### 19.1.3 Detektionsreagenzien

Saponine, Lignane (nach Detektion DC-Platte erhitzen)

1. 50%ige methanolische Schwefelsäure (erhitzen 5 - 10 Min. bei 120°C, betrachten im UV 360 nm)
2. Liebermann-Burchard-Reagenz  
5.0 ml Acetanhydrid werden unter Eiskühlung mit 5.0 ml konzentrierter Schwefelsäure gemischt und vorsichtig in 50.0 ml Äthanol absol. gegossen. Diese farblose Lösung wird mit 60.0 ml Chloroform gemischt. Die Menge an Detektionsreagenz ist dem Kammervolumen (Tauchmethode) anzupassen. Das Reagenz muß frisch hergestellt werden (erhitzen 10 Min. bei 120°C, betrachten im UV 360 nm).
3. Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz  
10 g Phosphormolybdänsäure sind in 85 ml Methanol zu lösen. Hinzugegeben werden 0.5 ml Anisaldehyd, 10 ml Eisessig und 5 ml konzentrierte Schwefelsäure. Das Detektionsreagenz ist frisch herzustellen (erhitzen 10 Min. bei 120°C).

Phenolische Substanzen (Isofraxidin, Chlorogensäure)

1. 1%iges methanolisches Naturstoff-Reagenz (Diphenylbor-säure- $\beta$ -amino-äthylester), anschließendes Besprühen mit
2. 5%igem äthanolischem Polyäthylenglykol-400-Reagenz (betrachten im UV 360 nm)

Zucker (nach Detektion DC-Platte erhitzen)

1. Diphenylaminphosphorsäure-Reagenz

2 g Diphenylamin, 2 ml Anilin und 10 ml 85%ige Phosphorsäure werden in Methanol zu 100 ml gelöst (erhitzen 5 - 10 Min. bei 120°C)

2. Anilinphthalat-Lösung

0.95 g Anilin und 1.66 g Phthalsäure werden in 100 ml wassergesättigtem n-Butanol gelöst (erhitzen 10 Min. bei 120°C)

19.1.4 Auftragegerät

Die Auftragslösungen wurden mit der Mikroliterspritze (max 5 µl Volumen) mit stumpfer Spitze der Fa.Unimetrics auf die DC-Platte appliziert.

19.1.5 Auftrageweise

Im Abstand von jeweils 1.5 cm wurden die Auftragepunkte auf der DC-Platte markiert. Mit der Mikroliterspritze wurde die Lösung punktförmig so aufgetragen, daß der Durchmesser des Punktes bei jeder Applikationsmenge 3 mm betrug. Dabei wurde die Mikroliterspritze so gehalten, daß die Kieselgelschicht nicht verletzt wurde. Mußte bei größerem Applikationsvolumen mehrmals auf denselben Punkt aufgetragen werden, wurde zwischendurch mit Kaltluft getrocknet. Da ein seitlicher DC-Plattenrandabstand von mindestens 2 cm eingehalten werden muß, können maximal 11 Substanzen auf eine DC-Platte aufgetragen werden. Nach jedem Wechseln der Auftragslösung wurde die Mikroliterspritze sorgfältig mit Methanol (3x) und Aceton (3x) gereinigt und mit Kaltluft getrocknet.

19.2 Säulenchromatographie

Der aufzutrennende Extrakt wurde unter Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand in dem zur jeweiligen Säulenchromatographie verwendeten Elutionsmittel gelöst.

1. Kieselgelsäule

Von Kieselgel 60 (0.05 - 0.2 mm) Merck wurden ca. 60 g mit 120 ml des Elutionsmittels a) = LM I oder b) = LM II in die Säule (1.8 x 55 cm) eingeschlämmt und etwa 12 Stdn. nachgewaschen.

2. Aluminiumoxydsäule

Von Aluminiumoxyd für die Säulenchromatographie nach BROCKMANN, Aktivitätsstufe II - III der Fa. Merck wurden 135 g mit dem Elutionsmittel a) = LM I oder b) = LM II in die Säule (1.8 x 55 cm) eingeschlämmt und ca. 12 Stdn. stehengelassen.

3. Sephadexsäule

Ca. 15 g Sephadex LH 20 der Fa. Pharmacia, Uppsala, wurden nach 12stündigem Quellen in Methanol in die Säule eingeschlämmt und mit dem 10fachen des Säulenvolumens an Methanol nachgewaschen (Füllvolumen der Säule: 1.8 cm x 55 cm).

19.3 Physikalisch-chemische Untersuchung

Die Schmelzpunktbestimmung der Ginsenoside wurden mit der Kofler-Heizbank der Fa. Reichert, Wien, durchgeführt. Die erhaltenen Werte sind unkorrigiert. Die Schmelzpunkte der Literatur beziehen sich auf einen Yanagimoto-Mikroschmelzpunktapparat. Sie sind unkorrigiert.

19.4 Allgemeine chemische Arbeitsmethode

Hydrolyse

Die zur Trockene eingeeengte Lösung des Eleutherococcus-Glykosidgemisches wurde in ca. 5 ml 2N Trifluoressigsäure gelöst und in einer Ampulle bei 120°C 30 Min. hydrolysiert. Anschließend wurde die Lösung unter Vakuum zur Trockene gebracht und so oft unter Zusatz von Äthanol zur Trockene eingeengt, bis das Reaktionsgemisch von der Trifluoressigsäure befreit war. Zum dünnschichtchromatographischen Nachweis der Zucker und Aglykone wurde der Rückstand in dem jeweiligen Lösungsmittel aufgenommen und direkt auf die DC-Platte gegeben.

## 20. Spezielle Arbeitsmethoden

### 20.1 Apparative Angaben und Fluoreszenzmeßanordnung (Panax ginseng)

Fluoreszenz-Spektrophotometer, Modell MPF-3 und QPD-33 Recorder der Firma Perkin Elmer: Exzitationswellenlänge 460 nm, Emissionswellenlänge 520 nm, Bandbreite jeweils 8 nm, Sample Sensitivity 3.0, Blende 1 x 6 mm, TLC-Scanner Vorschub high (= 50 mm/min), Mode Sample, Reference Sensitivity direkt, QPD-33 Vorschub medium (= 50 mm/min), Zero Suppression mit ZS-Pot. = 250  $\Omega$ , Response fast.

### 20.2 Ginsenosid-Bestimmung in Ginseng-Drogen

#### 20.2.1 Ginseng-Seitenwurzeln

##### a) Herstellung des Auszuges

0.500 g fein gepulverte Ginsengwurzel werden mit 200 ml Methanol 4 Stdn. am Soxhlet extrahiert, die Lösung bis auf etwa 50 ml unter Vakuum eingeeengt, in ein Eichkölbchen überführt und durch mehrmaliges Auswaschen des zur Extraktion verwendeten Kolbens mit Methanol die bis 100.00 ml fehlende Lösungsmittelmenge ergänzt. Ist die Konzentration der Ginsenoside zu hoch (festgestellt mittels Probeplatte), werden 25.00 ml der Lösung nochmals auf 100.00 ml verdünnt. Die Methanollösung wird direkt zur DC verwendet.

##### b) Auftragung

Von dem oben hergestellten Auszug werden 5  $\mu$ l und von einer 0.005%igen Ginsenosid Re-Lösung 7 verschiedene Auftragekonzentrationen (1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 und 5.0  $\mu$ l) in der unter 19.1.5 beschriebenen Weise auf die 20 x 20 cm DC-Kieselgelfertigplatte 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.25 mm der Fa.Merck appliziert.

##### c) Entwicklung der DC-Platte

Die Oberphase (= 100 ml) des Laufmittelgemisches n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5) wird in die DC-Kammer gegeben, die DC-Platte sofort in das Laufmittel eingestellt und chromatographiert, ohne eine Sättigung abzuwarten. Die Entwicklungsdauer beträgt bei einer Lauf-

mittelhöhe von 12 cm ca. 4 Stdn.. Die DC-Platte wird anschließend mit Kaltluft solange getrocknet, bis das Laufmittel verdunstet ist und dann sofort mit dem Detektionsmittelbehandelt.

d) Detektion der DC-Platte

In die mit Chloroform im Verhältnis 1:1 gemischte Liebermann-Burchard-Reagenzlösung, die sich in einer DC-Kammer bis zur Füllhöhe von mindestens 20 cm befindet (Herstellung siehe 19.1.3, S. 86), wird die DC-Platte einmal kurz bis über die Laufmittelfront eingetaucht, anschließend die auf der DC-Platte befindliche Reagenzlösung mit Kaltluft abgetrocknet und dann 10 Min. bei 120°C im Trockenschrank erhitzt.

e) Fluorometrie der DC-Flecke

Nach 10minütigem Abkühlen der DC-Platte werden die aufgetrennten Ginsenosidflecke vermessen. Zu diesem Zweck werden die einzelnen Auftragebahnen so einjustiert, daß vom Start bis zur Front die Reihe der aufgetrennten Ginsenoside vollständig vom Spalt erfaßt wird. Die Meßrichtung verläuft jeweils vom Start zur Front. Auf diese Weise werden die Ortskurven erhalten. Um den Verlauf der Grundlinie festzulegen, wird mit einer Leerstelle ebenso verfahren. Die erhaltenen Peakhöhen werden anschließend manuell ausgemessen und mit den jeweiligen Korrekturfaktoren (8.2., S. 24) umgerechnet. Die weitere statistische Auswertung und das Errechnen der aufgetrennten Ginsenosidmengen ist dem Kapitel 8.8 (S. 29) zu entnehmen.

f) Tabellen zur Statistik und Meßergebnisse

Die Tabellen zur Statistik für den Ginseng-Seitenwurzel-auszug sind auf Seite 31, die Meßergebnisse auf Seite 40 aufgeführt.

20.2.2 Panax ginseng, weiße Varietät

a) Herstellung des Auszuges

0.500 g fein gepulverte Panax ginseng-Wurzel werden mit 200 ml Methanol 4 Stdn. am Soxhlet extrahiert. Die Lö-

sung wird bis auf etwa 50 ml unter Vakuum eingeeengt, in ein Eichkölbchen überführt und unter mehrmaligem Nachwaschen mit Methanol auf 250.00 ml aufgefüllt.

b) Auftragung

Von dem oben hergestellten Auszug werden 5  $\mu$ l neben einer 0.005%igen Ginsenosid Re-Konzentrationsreihe, bestehend aus 5 Auftragungspunkten (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 und 5.0  $\mu$ l) in der unter 19.1.5. beschriebenen Weise auf die DC-Platte (19.1.1 a) appliziert.

Die weitere Bearbeitung erfolgt nach den unter 20.2.1. c), d) und e) angegebenen Methoden.

20.2.3 Panax ginseng, rote Varietät, Panax pseudoginseng, Panax quinquefolius und Panax japonicus

Bei dieser Droge wurde, wie bei Panax ginseng (weiße Varietät) beschrieben (20.2.2.2, S. 90) verfahren.

Tabelle zur Statistik und Meßergebnisse für 20.2.2.u.20.2.3.

Meßergebnisse zur Ginsenosid Re-Regressionsgerade

| Auftragemenge ( $\mu$ l) | Auftragemenge ( $\mu$ g)<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1.0                      | 0.050                           | 0.55                 |
| 2.0                      | 0.100                           | 1.20                 |
| 3.0                      | 0.150                           | 1.70                 |
| 4.0                      | 0.200                           | 2.10                 |
| 5.0                      | 0.250                           | 2.60                 |

$r = 0.9964$ ,  $T = 241.425$ ,  $k = 0.13$ ,  $b = 10.0$ ,  $\gamma = 0.13 + 10 \cdot x$

Peakhöhen der Ginsenoside des Panax ginseng (rote Var.)-Auszuges

| Ginsenosid bzw.<br>Fleck bei      | Peakhöhe y' | Peakhöhe · Faktor<br>y |
|-----------------------------------|-------------|------------------------|
| RX, Ra                            | 0.20        | 0.20                   |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | 2.70        | 1.69                   |
| Ro                                | 0.70        | 0.651                  |
| Rc                                | 1.10        | 0.715                  |
| Rd                                | 1.00        | 0.60                   |
| Re                                | 0.30        | 0.30                   |
| Rf                                | 0.15        | 0.15                   |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> | 0.50        | 1.15                   |
| F <sub>rot</sub>                  | 0.30        | 0.30                   |

Peakhöhen der Ginsenoside des Panax ginseng (weiße Var.)-Auszuges

| Ginsenosid bzw.<br>Fleck bei      | Peakhöhe y' | Peakhöhe · Faktor<br>y |
|-----------------------------------|-------------|------------------------|
| RX, Ra                            | 1.10        | 1.10                   |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | 2.00        | 1.25                   |
| Ro                                | 0.40        | 0.372                  |
| Rc                                | 1.00        | 0.65                   |
| Rd                                | 0.70        | 0.42                   |
| Re                                | 0.50        | 0.50                   |
| Rf                                | 0.20        | 0.20                   |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> | 0.30        | 0.69                   |

Peakhöhen der Ginsenoside des *Panax pseudoginseng*-Auszuges

| Ginsenosid bzw.<br>Fleck bei      | Peakhöhe y' | Peakhöhe • Faktor<br>y |
|-----------------------------------|-------------|------------------------|
| RX, Ra                            | -           | -                      |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | 2.50        | 1.56                   |
| Ro                                | -           | -                      |
| Rc                                | -           | -                      |
| Rd                                | 0.60        | 0.36                   |
| Re                                | 0.80        | 0.80                   |
| Rf                                | -           | -                      |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> | 2.00        | 4.60                   |

Peakhöhen der Ginsenoside des *Panax quinquefolius*-Auszuges

| Ginsenosid bzw.<br>Fleck bei      | Peakhöhe y' | Peakhöhe • Faktor<br>y |
|-----------------------------------|-------------|------------------------|
| RX, Ra                            | -           | -                      |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> | 2.10        | 1.32                   |
| Ro                                | 0.40        | 0.37                   |
| Rc                                | 0.60        | 0.39                   |
| Rd                                | 0.50        | 0.30                   |
| Re                                | 0.50        | 0.50                   |
| Rf                                | -           | -                      |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub> | 0.30        | 0.69                   |
| Peak unbekannt                    | 0.30        | 0.30                   |

Peakhöhen der Ginsenoside des Panax japonicus-Auszuges

| Ginsenosid bzw.<br>Fleck bei | Peakhöhe y' | Peakhöhe · Faktor<br>y |
|------------------------------|-------------|------------------------|
|                              | 1.2         | 1.2                    |
|                              | 3.0         | 3.0                    |
| Rb <sub>1</sub>              | 5.0         | 3.125                  |
| Ro                           | 6.5         | 6.045                  |
|                              | 5.5         | 5.5                    |
|                              | 3.0         | 3.0                    |
| Re                           | 0.2         | 0.2                    |
| Rg <sub>2</sub>              | 0.3         | 0.69                   |

20.3 Ginsenosidbestimmung in Ginseng-Handelspräparaten, ein-  
dimensionale Methode

20.3.1 Ginseng-Gelatine kapseln

- a) Das aus der geöffneten Kapsel entnommene Ginseng-Wurzel-  
pulver (= 0.350 g) wird im Soxhlet mit 100 ml Methanol  
4 Stdn. extrahiert, die eingeeengte Lösung in einen Meß-  
kolben überführt und unter Nachwaschen mit Methanol auf  
100.00 ml aufgefüllt. 10 µl dieser Lösung werden zur  
DC verwendet. Die weitere Bearbeitung erfolgt nach  
20.2.1 a) - e), S. 89 u. 90
- b) 40 Ginseng-Gelatine kapseln werden mit 50 ml Wasser bei  
40°C solange geschüttelt, bis alle Kapseln gelöst sind.  
Diese wässrige Gelatinelösung wird dreimal mit 100 ml  
wassergesättigtem n-Butanol ausgeschüttelt, die verei-  
nigten Butanollösungen unter Vakuum bis fast zur Trockne  
eingeeengt, der Rückstand in Methanol aufgenommen und im  
Meßkolben auf 50.00 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung  
werden 3 µl zur DC verwendet. Die weitere Bearbeitung  
erfolgt nach 20.2.1 b) - e), S. 89 u. 90.

20.3.2 Ginseng-Trockenextrakt

0.500 g werden in 20 ml Wasser gelöst und im Meßkolben mit  
Methanol auf 50.00 ml aufgefüllt. Die zur DC verwendete  
Auftragmenge beträgt 5 µl. Die weitere Bearbeitung erfolgt  
nach 20.2.1. b) - e), S. 89 u. 90.

### 20.3.3 Ginseng-Tonikum

25.00 ml werden mit 40 ml Wasser versetzt und mit Methanol im Meßkolben auf 100.00 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung werden 5 µl zur DC verwendet. Die weitere Bearbeitung erfolgt unter den in 20.2.1. b)-e) angegebenen Bedingungen.

### 20.3.4 Ginseng-Fluidextrakt

1.00 ml Fluidextrakt werden, wie bei Ginseng-Tonikum (20.2.1) angegeben, weiterbehandelt.

## 20.4 Ginsenosidbestimmung in Ginseng-Handelspräparaten, zweidimensionale Methode

### Ginseng-Tonikum

#### a) Herstellung der Auftragelösung

20.00 ml werden mit 40 ml Wasser verdünnt und mit Methanol im Meßkolben auf 100.00 ml aufgefüllt. Davon werden 3 x 10 µl zur quantitativen zweidimensionalen DC verwendet.

#### b) Auftragung der Ginseng-Tonikumlösung auf die DC-Platte

In drei Ecken der 20 x 20 cm DC-Kieselgelfertigplatte 60 F<sup>254</sup> Schichtdicke 0.25 mm der Fa. Merck werden je 10 µl der Auftragelösung mit einem Plattenrandabstand von 2 cm in der unter 19.1.5, S. 87, beschriebenen Weise appliziert (Abb. 16, S. 58). Die Ginsenosid Re-Konzentrationsreihe, bestehend aus 4 Auftragepunkte (1.0, 2.0, 3.0 und 4.0 µl) einer 0.005%igen Lösung wird erst nach dem ersten Entwicklungsvorgang auf die DC-Platte im DC-Eck 2 aufgetragen. Zu diesem Zweck wird die DC-Platte um 90° gedreht und in 2 cm Abstand vom unteren Plattenrand und vom Tonikum-Auftragepunkt (= 1.5 cm) alle 1.5 cm die 4 verschiedenen Konzentrationen der Lösung aufgetragen.

#### c) Entwicklung der DC-Platte

Die DC-Platte wird in der unter 20.2.1 c) angegebenen Weise in der 1. Laufmittelrichtung entwickelt. Hierbei befindet sich das DC-Eck 3 rechts, das DC-Eck 1 links. Nachdem die Laufmittelhöhe von 12 cm erreicht ist, wird die DC-Platte solange mit Kaltluft getrocknet, bis das Laufmittelgemisch I verdunstet ist. Anschließend erfolgt

die Entwicklung der um  $90^{\circ}$  gedrehten DC-Platte in der mit Laufmittel II (108 ml) gefüllten DC-Kammer, ebenfalls ohne eine Sättigung abzuwarten. Hierbei befindet sich das DC-Eck 1 rechts, das DC-Eck 2 links. Diese Laufmittelhöhe beträgt 15 cm (siehe Abb. 16, S. 58). Nach dem vollständigen Abdunsten des Lösungsmittels erfolgt die Detektion.

d) Detektion der DC-Platte

Die getrocknete DC-Platte wird in die unter 19.1.3 angegebene Detektionslösung bis zum Plattenrand einmal kurz eingetaucht. Die auf der Platte befindliche Reagenzlösung wird mit Kaltluft abgetrocknet, die DC-Platte dann 10 Min. bei  $120^{\circ}\text{C}$  im Trockenschrank erhitzt.

e) Messung der Ginsenosid-Flecke nach zweidimensionaler Auftrennung

Die Messung aller aufgetrennten Ginsenosidflecke erfolgt in Laufmittelrichtung I. Die Ginsenosid Re-Konzentrationsreihe wird in der Weise erstellt, daß jeder Ginsenosidfleck einzeln und vollständig vermessen wird. Bei den Ginsenosidflecken der Tonikum-Auftragelösung wird ebenso verfahren. Man erhält auf diese Weise keine kontinuierlichen Ortskurven.

f) Tabellen zur Statistik und Meßergebnisse

Meßergebnisse zur Ginsenosid Re-Regressionsgerade für HP 1, HP 3, HP 4 und HP 4a

| Auftragemenge (µl) | Auftragemenge (µg) | Peakhöhe (cm) |
|--------------------|--------------------|---------------|
| 1.5                | 0.075              | 0.50          |
| 2.0                | 0.100              | 0.70          |
| 2.5                | 0.125              | 0.90          |
| 3.0                | 0.150              | 1.05          |
| 4.0                | 0.200              | 1.40          |
| 5.0                | 0.250              | 1.70          |

$$r = 0.99865, T = 741.72, k = 0.018, b = 6.82, y = 0.018 + 6.82 \cdot x$$

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat 1 (HP 1)

| Auftragemenge<br>10 µl = 35 µg<br>Droge | Peak-<br>höhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt<br>(µg) x | %-Gehalt<br>Droge | bezogen auf<br>Ginsenoside |
|-----------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|----------------------------|
| Ginsenosid                              |                          |                                |                  |                   |                            |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub>       | 3.50                     | 2.1875                         | 0.3179           | 0.91              | 35.40                      |
| Ro                                      | 0.50                     | 0.465                          | 0.0655           | 0.19              | 7.29                       |
| Rc                                      | 1.25                     | 0.8125                         | 0.1164           | 0.33              | 12.96                      |
| Rd                                      | 0.80                     | 0.48                           | 0.0677           | 0.19              | 7.54                       |
| Re                                      | 0.50                     | 0.50                           | 0.0706           | 0.20              | 7.86                       |
| Rf                                      | 0.20                     | 0.20                           | 0.0267           | 0.08              | 2.97                       |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>       | 0.70                     | 1.61                           | 0.2333           | 0.67              | 25.98                      |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside            |                          |                                | 0.8981           | 2.57              | 100.00                     |
| Ginsenosid Ra mit                       |                          |                                |                  |                   |                            |
| Saponin RX                              | 0.5                      | 0.5                            | 0.0706           | 0.20              |                            |
| Gesamtgehalt aller                      |                          |                                |                  |                   |                            |
| Ginseng-Saponine                        |                          |                                | 0.9687           | 2.77              |                            |

Meßergebnisse zur Ginsenosid Re-Regressionsgerade für HP 2

| Auftragemenge (µl) | Auftragemenge (µg)<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------|---------------------------|----------------------|
| 1.5                | 0.075                     | 1.3                  |
| 2.0                | 0.100                     | 1.4                  |
| 2.5                | 0.125                     | 1.7                  |
| 3.0                | 0.150                     | 2.0                  |
| 4.0                | 0.200                     | 2.7                  |
| 5.0                | 0.250                     | 3.3                  |

$$r = 0.99459, T = 184.6, k = 0.267, b = 12.00, y = 0.267+12 \cdot x$$

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 2

| Auftragemenge<br>3 µl = 432 µg<br>Droge | Peakhöhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>· Faktor<br>(cm) y | Gehalt<br>(µg) x | Gehalt/1 Kap-<br>sel= 60 mg Ex-<br>trakt= 180 mg<br>Droge (µg) x | %-Gehalt<br>bezogen<br>auf Gin-<br>senoside |
|-----------------------------------------|---------------------|--------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Ginsenosid                              |                     |                                |                  |                                                                  |                                             |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub>       | 7.30                | 4.56                           | 0.3578           | 149.0833                                                         | 20.35                                       |
| Ro                                      | 2.20                | 2.05                           | 0.1486           | 61.9167                                                          | 8.45                                        |
| Rc                                      | 5.60                | 3.64                           | 0.2811           | 117.1250                                                         | 15.99                                       |
| Rd                                      | 1.50                | 0.90                           | 0.0528           | 22.0000                                                          | 3.01                                        |
| Re                                      | 1.95                | 1.95                           | 0.1403           | 58.4583                                                          | 7.98                                        |
| Rf                                      | 1.00                | 1.00                           | 0.0611           | 25.4583                                                          | 3.48                                        |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>       | 3.85                | 8.86                           | 0.7161           | 298.3750                                                         | 40.74                                       |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside            |                     |                                | 1.7578           | 732.4166                                                         | 100.00                                      |
|                                         |                     |                                |                  | = 0.407% bez.a.Droge                                             |                                             |
|                                         |                     |                                |                  | = 1.221% bez.a.Extrakt                                           |                                             |
| Ginsenosid Ra                           |                     |                                |                  |                                                                  |                                             |
| mit Saponin RX                          | 1.95                | 1.95                           | 0.1403           | 58.4583                                                          |                                             |
| F <sub>rot</sub>                        |                     | 0.75                           | 0.0403           | 16.7917                                                          |                                             |
| Gesamtgehalt aller                      |                     |                                |                  |                                                                  |                                             |
| Ginseng-Saponine                        |                     |                                | 1.9384           | 807.6666                                                         |                                             |
|                                         |                     |                                |                  | = 0.449% bez.a.Droge                                             |                                             |
|                                         |                     |                                |                  | = 1.347% bez.a.Extrakt                                           |                                             |

Meßergebnisse zur Ginsenosid Re-Regressionsgerade für HP 2a

| Auftragemenge (µl) | Auftragemenge (µg)<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------|---------------------------|----------------------|
| 1.0                | 0.050                     | 0.70                 |
| 1.5                | 0.075                     | 1.05                 |
| 2.0                | 0.100                     | 1.40                 |
| 2.5                | 0.125                     | 1.90                 |
| 3.0                | 0.150                     | 2.30                 |
| 3.5                | 0.175                     | 2.60                 |
| 4.0                | 0.200                     | 2.90                 |
| 5.0                | 0.250                     | 3.65                 |

$$r = 0.99828, T = 716.07, k = -0.028, b = 14.87, y = -0.028 + 14.87 \cdot x$$

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 2a

| Auftragemenge<br>5 µl = 150 µg<br>Droge | Peakhöhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt<br>(µg) x | Gehalt/Ginseng<br>Extrakt = 60mg<br>Droge = 180 mg<br>(µg) x | %-Geh.<br>bez.a.<br>Ginsenoside |
|-----------------------------------------|---------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Ginsenosid                              |                     |                                |                  |                                                              |                                 |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub>       | 2.05                | 1.28                           | 0.0880           | 105.60                                                       | 10.45                           |
| Ro nicht meßbar                         | -                   | -                              | -                | -                                                            | -                               |
| Rc                                      | 2.15                | 1.40                           | 0.0961           | 115.32                                                       | 11.41                           |
| Rd                                      | 1.10                | 0.66                           | 0.0463           | 55.56                                                        | 5.50                            |
| Re                                      | 1.90                | 1.90                           | 0.1297           | 155.64                                                       | 15.40                           |
| Rf                                      | 0.90                | 0.90                           | 0.0624           | 74.88                                                        | 7.41                            |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>       | 2.70                | 6.21                           | 0.4196           | 503.52                                                       | 49.83                           |

|                              |        |                     |        |
|------------------------------|--------|---------------------|--------|
| Gesamtgehalt der Ginsenoside | 0.8421 | 1010.52             | 100.00 |
|                              | =      | 0.56% bez.a.Droge   |        |
|                              | =      | 1.68% bez.a.Extrakt |        |

Ginsenosid Ra mit

|                  |      |      |        |        |
|------------------|------|------|--------|--------|
| Saponin Rx       | 1.30 | 1.30 | 0.0893 | 107.16 |
| F <sub>rot</sub> |      | 0.40 | 0.0288 | 34.56  |

|                                        |        |                     |  |
|----------------------------------------|--------|---------------------|--|
| Gesamtgehalt aller<br>Ginseng-Saponine | 0.9602 | 1152.24             |  |
|                                        | =      | 0.64% bez.a.Droge   |  |
|                                        | =      | 1.92% bez.a.Extrakt |  |

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 3

| Auftragemenge<br>2 µl = 106 µg<br>Droge | Peak-<br>höhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt bezogen auf<br>(106 µg) x | Gehalt bezogen auf<br>(50 µg) x | %-Gehalt<br>bezogen auf<br>Droge |
|-----------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Ginsenosid                              |                          |                                |                                  |                                 |                                  |
| Rd                                      | 1.40                     | 0.84                           | 0.1204                           | 0.0567                          | 0.11                             |
| Re                                      | 1.40                     | 1.40                           | 0.2025                           | 0.0955                          | 0.19                             |
| Rf                                      | 0.40                     | 0.40                           | 0.0560                           | 0.0264                          | 0.05                             |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>       | 1.90                     | 4.37                           | 0.6378                           | 0.3008                          | 0.60                             |
| Gesamtgehalt der Ginseng-Saponine       |                          |                                | 1.0167                           | 0.4794                          | 0.95                             |

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 4

| Auftragemenge<br>5 µl = 66.25 µg<br>Droge | Peak-<br>höhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt bezogen auf<br>66.25 µg<br>Droge x | Gehalt bezogen auf<br>50 µg | %-Gehalt<br>bezogen auf<br>Droge |
|-------------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Ginsenosid                                |                          |                                |                                           |                             |                                  |
| Rd                                        | 0.6                      | 0.36                           | 0.0501                                    | 0.0378                      | 0.08                             |
| Re                                        | 0.6                      | 0.60                           | 0.0853                                    | 0.0644                      | 0.13                             |
| Rf                                        | 0.25                     | 0.25                           | 0.0340                                    | 0.0257                      | 0.05                             |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>         | 1.1                      | 2.53                           | 0.3681                                    | 0.2778                      | 0.55                             |
| Gesamtgehalt der Ginseng-Saponine         |                          |                                | 0.5375                                    | 0.4057                      | 0.81                             |

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 4a

| Auftragemenge<br>5 µl = 50 µg<br>Droge | Peak-<br>höhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt<br>(µg) x | %-Gehalt<br>Droge | bezogen auf<br>Ginsenoside |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|----------------------------|
| Ginsenosid                             |                          |                                |                  |                   |                            |
| Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub>      | 4.35                     | 2.71875                        | 0.3958           | 0.79              | 33.75                      |
| Ro                                     | 0.30                     | 0.279                          | 0.0382           | 0.08              | 3.26                       |
| Rc                                     | 1.35                     | 0.8775                         | 0.1259           | 0.25              | 10.73                      |
| Rd                                     | 0.90                     | 0.54                           | 0.0765           | 0.15              | 6.52                       |
| Re                                     | 0.90                     | 0.90                           | 0.1292           | 0.26              | 11.02                      |
| Rf                                     | 0.40                     | 0.40                           | 0.0560           | 0.11              | 4.77                       |
| Rg <sub>1</sub> , Rg <sub>2</sub>      | 1.05                     | 2.415                          | 0.3513           | 0.70              | 29.95                      |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside           |                          |                                | 1.1729           | 2.34              | 100.00                     |
| Ginsenoside Ra                         |                          |                                |                  |                   |                            |
| mit Saponin RX                         | 0.40                     | 0.4                            | 0.0560           | 0.11              |                            |
| Gesamtgehalt aller                     |                          |                                |                  |                   |                            |
| Ginseng-Saponine                       |                          |                                | 1.2289           | 2.45              |                            |

Meßergebnisse zur Ginsenosid Re-Regressionsgerade für HP 5

| Auftragemenge (µl) | Auftragemenge (µg)<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------|---------------------------|----------------------|
| 1.0                | 0.050                     | 1.5                  |
| 2.0                | 0.100                     | 2.5                  |
| 3.0                | 0.150                     | 4.0                  |
| 4.0                | 0.200                     | 5.3                  |

$$r = 0.99719, T = 251.38, k = 0.010, b = 25.80, y = 0.01 + 25.80 \cdot x$$

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 5

| Auftragemenge<br>10 $\mu$ l = 100 $\mu$ g<br>Droge      | Peakhöhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt/<br>10 $\mu$ l<br>( $\mu$ g) x | %-Gehalt<br>Droge | bezogen auf<br>Ginsenoside |
|---------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------------|
| von Ginsenosid Rb <sub>1</sub> / Rb <sub>2</sub> bis Rd |                     |                                |                                       |                   |                            |
| wegen zu geringer Konzentration                         |                     |                                |                                       |                   |                            |
| keine meßbaren Werte                                    |                     |                                |                                       |                   |                            |
| Ginsenosid                                              |                     |                                |                                       |                   |                            |
| Re                                                      | 0.30                | 0.30                           | 0.0156                                | 0.016             | 5.31                       |
| Rf                                                      | 0.55                | 0.55                           | 0.0348                                | 0.035             | 11.84                      |
| Rg <sub>1</sub>                                         | 0.45                | 1.04                           | 0.0728                                | 0.073             | 24.78                      |
| Rg <sub>2</sub>                                         | 1.00                | 2.30                           | 0.1706                                | 0.171             | 58.07                      |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside                            |                     |                                | 0.2938                                | 0.295             | 100.00                     |
| F <sub>rot</sub>                                        |                     |                                | 0.0776                                | 0.078             |                            |
| Gesamtgehalt aller                                      |                     |                                |                                       |                   |                            |
| Ginseng-Saponine                                        |                     |                                | 0.3714                                | 0.373             |                            |

Meßergebnisse zur Regressionsgerade für HP 6

| Auftragemenge (µl) | Auftragemenge (µg)<br>(x) | Peakhöhe (cm)<br>(y) |
|--------------------|---------------------------|----------------------|
| 1.0                | 0.050                     | 0.90                 |
| 2.0                | 0.100                     | 1.55                 |
| 3.0                | 0.150                     | 2.10                 |

$$r = 0.99884, T = 430.78, k = 0.317, b = 12.00, y = 0.317 + 12.00 \cdot x$$

Ginsenosidgehalt in Handelspräparat HP 6

| Auftragemenge<br>10 µl = 100 µg<br>Droge | Peakhöhe<br>(cm) y' | Peakhöhe<br>• Faktor<br>(cm) y | Gehalt/<br>10 µl<br>(µg) x | %-Gehalt<br>Droge | bezogen auf<br>Ginsenoside |
|------------------------------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|
| Ginsenosid                               |                     |                                |                            |                   |                            |
| Rb <sub>1</sub>                          | 8.20                | 5.33                           | 0.4178                     | 0.42              | 28.13                      |
| Rb <sub>2</sub>                          | 5.70                | 3.42                           | 0.2586                     | 0.26              | 17.41                      |
| Rc                                       | 4.20                | 2.73                           | 0.2011                     | 0.20              | 13.54                      |
| Rd                                       | 2.70                | 1.62                           | 0.1086                     | 0.11              | 7.31                       |
| Re                                       | 1.90                | 1.90                           | 0.1319                     | 0.13              | 8.89                       |
| Rf                                       | 0.90                | 0.90                           | 0.0486                     | 0.05              | 3.27                       |
| Rg (nicht meßbar)                        | -                   | -                              | -                          | -                 | -                          |
| Rg <sub>2</sub>                          | 1.80                | 4.14                           | 0.3186                     | 0.32              | 21.45                      |
| Gesamtgehalt der Ginsenoside             |                     |                                | 1.4852                     | 1.49              | 100.00                     |
| Ginsenosid Ra                            |                     |                                |                            |                   |                            |
| mit Saponin RX                           | 3.30                | 3.30                           | 0.2486                     | 0.25              |                            |
| F <sub>rot</sub>                         | 2.80                | 2.80                           | 0.2069                     | 0.21              |                            |
| Gesamtgehalt aller<br>Ginseng-Saponine   |                     |                                | 1.9407                     | 1.95              |                            |

20.5. Apparative Angaben und Fluoreszenzmeßanordnung für die Untersuchungen von Eleutherococcus senticosus

Exzitationswellenlänge 280 nm, Emissionswellenlänge 280 nm, Sample Sensitivity 3.0, Blende 1 x 6 mm (weitere Angaben unter 20.1.).

20.6. DC-Analyse des Extraktes von Eleutherococcus senticosus

20.6.1. Auftragung

Der Eleutherococcus-Handelsextrakt wurde ohne weitere Verdünnung oder Konzentrierung direkt auf die DC-Platte appliziert. Es wurden 10 µl strichförmig über eine Strecke von 1 cm mit der Mikropipette auf die DC-Kieselgelplatte 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.25 mm der Fa. Merck aufgetragen und mit Kaltluft getrocknet.

20.6.2. Entwicklung der DC-Platte

Im Laufmittel III (Chloroform-Methanol-Wasser (70:25:4)) gelangten die Eleutheroside B, D bzw. E und Syringin zur Auftrennung. Im Laufmittel IV Toluol-Äthylacetat (3:1) konnten Sesamin, Isofraxidin, Oleanolsäure, Eleutherosid B-Aglykon und Syringaresinol getrennt werden. Das Laufmittel V (Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (10:2:3)) brachte eine optimale Trennung für Isofraxidin und Chlorigensäure. Isofraxidin ließ sich auch im Laufmittel VI (Chloroform-Methanol (97.5:2.5)) gut nachweisen. Die nach Hydrolyse erhaltenen Zucker wurden im Laufmittel VII (Chloroform-Methanol-Wasser (64:40:8)) aufgetrennt und identifiziert.

20.6.3. Detektion der DC-Platte

Für die Sichtbarmachung der Lignane, deren Aglykone und die Coniferylverbindungen (Sesamin, Eleutherosid B-Aglykon, Eleutherosid E, D-Aglykon) sowie Oleanolsäure waren 50%ige Schwefelsäure, Liebermann-Burchard-Reagenz (nicht modifiziert) und das Phosphormolybdänsäure-Anisaldehyd-Reagenz geeignet. Mit 1%igem Naturstoff-Reagenz und anschließendem Besprühen mit 5%igem Polyäthylenglykol-Rea-

ganz zeigten die phenolischen Verbindungen (Isofraxidin und Chlorogensäure) eine starke Fluoreszenz. Die nach Hydrolyse erhaltenen Zucker (Glucose und Fructose) konnten an Hand ihrer Farbunterschiede besonders bei Detektion mit dem Diphenylphosphorsäure-Reagenz identifiziert werden. Die Anilinphthalat-Lösung war hierzu weniger geeignet.

#### 20.6.4. Hydrolyse der Triterpensaponin-Fraktion

Die Triterpensaponine ließen sich im Extrakt durch DC nicht nachweisen. Deshalb wurden 0.2 ml Extrakt über die Breite einer DC-Platte strichförmig aufgetragen und sowohl in LM I als auch in LM II bis zur Laufmittelhöhe von 15 cm entwickelt. Nach vollständigem Abdunsten des Laufmittels mit Kaltluft wurde eine breite Kieselgelzone von  $R_f$  0.05 bis 0.2 ausgekratzt und mit 2 x 20 ml Methanol unter 3stündigem Rühren eluiert. Die Lösung wurde filtriert, der Rückstand mehrmals mit Methanol gewaschen und die vereinigten Lösungen zentrifugiert. Die überstehende klare Lösung wurde in einen Kolben gefüllt und unter Vakuum zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in 5 ml 2 N Trifluoressigsäure gelöst und in einer Ampulle bei 120°C 30 Min. hydrolysiert. Die Lösung wurde unter Vakuum zur Trockene gebracht und durch mehrmaliges Destillieren in Anwesenheit von Äthanol von der Trifluoressigsäure befreit. Zum Nachweis der erhaltenen Zucker und der Oleanolsäure wurde der Rückstand in Pyridin oder Methanol (Zucker) bzw. Äthanol (Oleanolsäure) aufgenommen und direkt chromatographiert. In gleicher Weise wurden 20 ml Handelsextrakt behandelt.

#### 20.6.5. Säulenchromatographie

Um die Lignanfraktion zu erhalten, wurden 20 ml Handelsextrakt unter Vakuum bis zur sirupösen Konsistenz eingeeengt und jeweils 1 Stde. mit 3 x 50 ml Äther und Dichlormethan geschüttelt. Anschließend wurde der sirupartige

Rückstand 1 Stde. unter Schütteln mit 3 x 50 ml Äthylacetat extrahiert. Die vereinigten Äthylacetatlösungen wurden konzentriert und zur Säulenchromatographie verwendet. Hierfür wurde der Rückstand der Äthylacetataus-schüttelung in 5 ml Elutionsmittel n-Butanol-Äthylacetat-Wasser (4:1:5, Oberphase) gelöst und auf die Kieselgel-säule (1.8 x 55 cm) aufgebracht. Es wurden die Fraktio-nen zu je 5 ml gesammelt und jede 5. Fraktion wurde chro-matographiert. Die Tropfgeschwindigkeit betrug 0.5 ml/Min.. Die Lignane, die in den Fraktionen 30 bis 40 ange-reichert waren, wurden zusammengefaßt, eingeeengt und chromatographiert.

# L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) S.SANADA, N.KONDO, J.SHOJI, O.TANAKA u. S.SHIBATA, Chem. Pharm.Bull. 22, 421 (1974)
- 2) S.SANADA, N.KONDO, J.SHOJI, O.TANAKA u. S.SHIBATA, Chem. Pharm.Bull. 22, 2407 (1974)
- 3) Y.NAGAI, O.TANAKA u. S.SHIBATA, Tetrahedron 27, 881 (1971)
- 4) S.SANADA u. J.SHOJI, Chem.Pharm.Bull. 26, 1694 (1978)
- 5) S.YAHARA, K.KAJI u. O.TANAKA, Chem.Pharm.Bull. 27, 88 (1979)
- 6) I.I.BREKHMAN u. I.V.DARDYMOV, Lloydia 32, 46 (1969)
- 7) F.SANDBERG, Planta med. 24, 392 (1973)
- 8) M.PORKERT, Klinische Chinesische Pharmakologie, Verlag für Medizin Dr.Ewald Fischer, Heidelberg (1978)
- 9) The Pharmacopoeia of Japan, 7th Edition Part II, (1962) S.94
- 10) Korean Pharmacopoeia 3th Edition (1975), Band II
- 11) State Pharmacopoeia of the Union of Soviet Socialist Republics 9th Edition (1961) S. 377
- 12) Homöopathisches Arzneibuch, 2.Auflage, Verlag Dr.Willmar Schwabe, Leipzig (1934) S. 208
- 13) HAGER's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Herausg.G. Frerichs, G.Arends u. H.Zörnig, Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg (1949) Bd. 1, S. 1351
- 14) Homöopathisches Arzneibuch, 1.Ausgabe, Deutscher Apotheker-Verlag Stuttgart, Govi-Verlag GmbH., Frankfurt (1978)
- 15) H.A.HOPPE, Drogenkunde 7.Auflage, Cram, De Gruyter u.Co.-Verlag, Hamburg (1958), S. 632
- 16) H.A.HOPPE, Drogenkunde 8.Auflage, De Gruyter-Verlag Berlin, New York (1975), S. 782
- 17) H.WAGNER, Pharmazeutische Biologie, Drogen und ihre Inhaltsstoffe, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart (1980), S. 134
- 18) E.STEINEGGER u. R.HÄNSEL, Lehrbuch der Pharmakologie, 3.Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1972), S. 537
- 19) E.P.CLAUS u. V.E.TYLER JR., Pharmakognosy, 5.Ausgabe, Lea u.Febiger, Philadelphia (1965), S. 137
- 20) F.SANDBERG, Der Deutsche Apotheker 24, 4 (1972)
- 21) W.PETKOV, Pharm.Ztg. 113, 1281 (1968)
- 22) T.KAKU, T.MIYATA, T.URUNO, I.SAKO u. A.KINOSHITA, Arzneim.-Forsch. 25, 539 (1975)
- 23) H.OURA u. S.HIAI, Proceedings of International Ginseng Symposium Seoul (1974), S. 23
- 24) K.SAKAKIBARA, Y.SHIBATA, T.HIGASHI, S.SANADA u. J.SHOJI, Chem.Pharm.Bull. 23, 1009 (1975)
- 25) K.GOMMORI, F.MIYAMOTO, Y.SHIBATA, T.HIGASHI, S.SANADA u. J.SHOJI, Chem.Pharm.Bull. 24, 2985 (1976)
- 26) H.J.SCHÖPFER, Dtsch.Apoth.-Ztg. 116, 1 (1976)
- 27) W.PETKOV, Arzneim.-Forsch. 11, 288, 418 (1961)
- 28) T.L.BYKHOVTSOVA, Izv.Akad.Nauk SSSR, Ser.Biol. 6, 915 (1970 ref.C.A. 74, 51311n (1971))
- 29) M.YAMAMOTO, A.KUMAGAI u. Y.YAMAMURA, Proceedings of International Ginseng Symposium, Seoul (1974), S. 129
- 30) M.IIJIMA, T.HIGASHI, S.SANADA u. J.SHOJI, J.Chem.Pharm.Bull. 24, 2400 (1976)

- 31) W.PETKOV u. D.STANEVA, *Arzneim.-Forsch.* 13, 1078 (1963)
- 32) I.I.BREKHMAN, Gerontologisches Symposium Lugano (1975)
- 33) K.D.LEE u. R.P.HUEMER, *Jpn.J.Pharmacol.* 23, 299 (1971)  
ref. C.A. 75, 128420c (1971)
- 34) W.H.KLIMPEL, *Der Deutsche Apotheker* 29, 166 (1977)
- 35) R.K.SIEGEL, *Jama* 241, 1614 (1979) ref. *Pharmaz.Ztg.* 124,  
1394 (1979)
- 36) H.WAGNER, *Apotheker Journal* 11, 38 (1979)
- 37) B.LAY, *Dissertation München* (1965)
- 38) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER u. B.LAY, *Pharm.Ztg.* 106, 1307 (1961)
- 39) T.KAKU, T.MIJATA, T.URUNO, I.SAKO u. A.KINOSHITA, *Arzneim.-Forsch.* 25, 343 (1975)
- 40) F.GSTIRNER u. H.J.VOGT, *Archiv der Pharmazie* 400, 371 (1967)
- 41) M.TAKAHASHI, K.ISOI, Y.KIMURA u. M.YOSHIKURA, *Yakugaku Zasshi* 84, 752 (1964), ref. C.A. 61, 11882 (1964)
- 42) K.TAKIURA u. I.NAKAGAWA, *Yakugaku Zasshi* 83, 298 (1963),  
ref. C.A.
- 43) T.F.SOLOV'eva, T.I.PRUDNIKOVA u. YU.S.OVODOV, *Rast.Resur.* 4,  
497 (1968), ref. C.A. 70, 112397 m (1969)
- 44) T.F.SOLOV'eva, L.V.ARSENYUK u. YU.S.OVODOV, *Carbohyd.Res.* 10,  
13 (1969)
- 45) B.H.HAN, B.J.SONG u. H.S.RO, *Kor.J.Pharmacog.* 7, 191 (1976)
- 46) J.PIJCK u. J.I.KIM, *J.Pharm.Belg.* 19, 3 (1964)
- 47) O.TANAKA, M.NAGAI, T.OHSAWA, N.TANAKA, K.-I.KAWAI u.  
S.SHIBATA, *Chem.Pharm.Bull.* 20, 1204 (1977)
- 48) J.Y.KIM u. E.J.STABA, *Korean J.Pharmacog.* 4, 197 (1973)
- 49) G.B.ELYAKOV, L.I.STRIGINA, A.YA.KHORLIN u. N.K.KOCHETKOV,  
*Izv.Akad.Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk* 2054 (1962), ref. C.A.  
58, 9218 (1963)
- 50) N.KONDO, J.SHOJI, N.NAGUMO u. N.KOMATSU, *Yakugaku Zasshi* 89,  
846 (1969), ref. C.A. 73, 102180s (1970)
- 51) N.KONDO, K.AOKI, H.OGAWA, R.KASAI u. J.SHOJI, *Chem.Pharm.  
Bull.* 18, 1558 (1970)
- 52) N.KONDO, Y.MARUMOTO u. J.SHOJI, *Chem.Pharm.Bull.* 19, 1103  
(1971)
- 53) T.D.LIN, N.KONDO u. J.SHOJI, *Chem.Pharm.Bull.* 24, 253 (1976)
- 54) T.D.LIN u. J.SHOJI, *J.Chinese Chem.Soc.* 26, 29 (1979)
- 55) N.KONDO, J.SHOJI u. O.TANAKA, *Chem.Pharm.Bull.* 21, 2702  
(1973)
- 56) N.KONDO u. J.SHOJI, *Chem.Pharm.Bull.* 23, 3282 (1975)
- 57) O.TANAKA u. S.YAHARA, *Phytochemistry* 27, 1353 (1978)
- 58) J.Y.KIM u. E.J.STABA, *Kor.J.Pharmacog.* 3, 85 (1974)
- 59) S.E.CHEN u. E.J.STABA, *Lloydia* 41, 361 (1978)
- 60) O.JISABURO, *Flora of Japan*, Smithsonian Institution,  
Washington D.C. (1965), S. 853
- 61) R.TSCHESCHE u. G.WULFF, *Planta medica* 12, 272 (1964)
- 62) O.-E.SCHULTZ u. E.BARTHOLD, *Die Pharmazie* 4, 521 (1949)
- 63) P.POHL u. W.HÄDRICH, *Dtsch.Apoth.-Ztg.* 116, 625 (1976)
- 64) I.SZILAGYI u. ZS.KERNOCZY, *Planta medica* 31, 103 (1977)
- 65) TH.KARTNIG, C.Y.RI u. O.WEGSCHAIDER, *Planta medica* 22, 127  
(1972)
- 66) TH.KARTNIG, O.WEGSCHAIDER u. C.Y.RI, *Planta medica* 21, 29  
(1972)
- 67) W.SCHLEMMER u. J.BOSSE, *Archiv der Pharmazie* 296, 785 (1963)
- 68) L.KLINGMÜLLER, *Dissertation Hamburg* (1961)

- 69) C.H.BRIESKORN u. W.WALLENSTÄTTER, Archiv der Pharmazie 300, 717 (1967)
- 70) M.SERG, Dissertation Würzburg (1976)
- 71) F.SOLDATI u. O.STICHER, Planta medica 32A, 38 (1977)
- 72) Y.TAKINO, M.KOSHIOKA, M.SHIOKAWA, Y.ISHII, S.MARUYAMA, M.HIGASHINO u. T.HAYASHI, Planta medica 36, 74 (1979)
- 73) TH.VONDENHOF, K.-W.GLOMBITZA u. M.STEINER, Scientia Pharmaceutica 41, 155 (1973)
- 74) T.NAMBA, M.YOSHIZAKI, T.TOMOMORI, K.KOBASHI, K.MITSUI u. J.HASE, Chem.Pharm.Bull. 21, 459 (1973)
- 75) S.HIAI, H.OURA, H.HAMANAKA u. Y.ODAKA, Planta medica 28, 131 (1975)
- 76) S.HIAI, H.OURA, Y.ODAKA u. T.NAKAJIMA, Planta medica 28, 363 (1975)
- 77) S.HIAI, H.OURA u. T.NAKAJIMA, Planta medica 29, 116 (1976)
- 78) E.BOMBARDELLI, A.BONATI, B.GABETTA, E.M.MARTINELLI u. G.MUSTICH, Fitoterapia 47, 99 (1976)
- 79) C.H.BRIESKORN u. A.MOSANDL, Sci.Pharm. 46, 106 (1978)
- 80) P.DIESEL, Dissertation München (1974)
- 81) U.HEZEL, Angew.Chem. 85, 334 (1973)
- 82) G.H.JOLLIFFE u. E.J.SHELLARD, Gerontologisches Symposium Lugano (1975)
- 83) H.WAGNER u. A.WURMBÖCK, Dtsch.Apoth.-Ztg. 118, 1209 (1978)
- 84) S.EBEL u. D.ROST, Arch.Pharm. 311, 914 (1978)
- 85) L.CAVALLI-SFORZA, Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart (1972)
- 86) E.KREYSZIG, Statistische Methoden und ihre Anwendungen, Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen (1972)
- 87) H.HONERLAGEN u. H.-R.TRETTER, Dtsch.Apoth.-Ztg. 119, 1483 (1979)
- 88) V.BETZ, J.DEUMIG, H.HEB, C.KÖHLER u. H.SCHÖNMANN, Dtsch. Apoth.-Ztg. 119, 845 (1979)
- 89) H.OTSUKA, Y.MORITA, Y.OGIHARA u. S.SHIBATA, Planta medica 32, 9 (1977)
- 90) S.SANADA, J.SHOJI u. S.SHIBATA, Yakugaku Zasshi 98, 1048 (1978)
- 91) Y.-I.SARUWATARI, H.BESSO, K.FUTAMURA, T.FUWA u. O.TANAKA, Chem.Pharm.Bull. 27, 147 (1979)
- 92) H.WAGNER u. A.WURMBÖCK, Dtsch.Apoth.-Ztg. 117, 743 (1977)
- 93) S.SHIBATA, Gerontologisches Symposium Lugano (1975)
- 94) J.SHOJI, Privatmitteilung Universität München (1976)
- 95) Natural Product Research Institute, Natural University, Seoul (1978)
- 96) T.TANIMURA, J.J.PISANO, Y.ITO u. R.L.BOWMAN, Science 169, 54 (1970)
- 97) F.SOLDATI, Dissertation Zürich (1979)
- 98) H.BESSO, Y.SARUWATARI, K.FUTAMURA, T.FUWA u. O.TANAKA, Planta medica 37, 226 (1979)
- 99) F.SOLDATI u. O.STICHER, Planta medica 38, 348 (1980)
- 100) N.I.SUPRUNOW u. T.P.SAMAILOW, Mitteilung der Akademie der Wissenschaften der UdSSR, Sibirische Abteilung
- 101) S.DARMANANDA, Mitteilung der Fmali Co., Santa Cruz (1976)
- 102) CH.S.YOOK, D.H.LEE u. Y.K.SEO, Kor.J.Pharmacog. 7, 179 (1976)
- 103) H.LIN-LI, Sargentia (1942), ref.G.HANKE, Mitteilung (1978)

- 104) YU.S.OVODOV, R.G.OVODOVA, T.F.SOLOV'EVA, G.B.ELYAKOV u. N.K.KOCHETKOV, Khim.Prirodn.Soedin, Akad.Nauk Uz.SSR, 1, 3 (1965), ref. C.A. 62, 16630a (1965)
- 105) YU.S.OVODOV, G.M.FROLOVA, A.K.DZIZENKO u. V.I.LITVINENKO, Izv.Akad.Nauk SSSR, Ser.Khim 6, 1370 (1969), ref.C.A. 71, 81693 u (1969)
- 106) M.M.ANISIMOV, E.B.FRONERT, G.M.FROLOVA u. N.I.SUPRUNOV, Izv.Akad.Nauk SSR, Ser.Biol. 4, 590 (1973), ref.C.A. 79, 122256 (1973)
- 107) YU.S.OVODOV, G.M.FROLOVA, L.A.ELYAKOVA u. G.B.ELYAKOV, Izv. Akad.Nauk SSSR, Ser.Khim 11, 2065 (1965)
- 108) R.TSCHESCHE u. G.WULFF, Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Herausg.W.HERZ, H.GRISEBACH u. G.W.KIRBY, Springer-Verlag, Wien-New York 1973, Bd. 30, S. 461
- 109) V.F.LAPCHIK u. YU.S.OVODOV, Rast.Resur. 6, 228 (1970), ref. C.A. 74, 1080 r (1971)
- 110) A.S.SARATIKOV, Stimulatory Tsent.Nerv.Sist. 3 (1966), ref. C.A. 70, 10069 p (1969)
- 111) V.M.VOROPAEV u. M.A.ROZIN, Lek.Sredstva Dal'nego Vostoka 11, 74 (1972), ref. C.A. 82, 52153 q (1975)
- 112) I.V.DARDYMOV, G.N.BEZDETOKO u. I.I.BREKHMEN, Vop.Med.Khim 18, 267 (1972), ref. C.A. 77, 97282 u (1972)
- 113) I.V.DARDYMOV, V.V.BERDYSHEV, P.P.GOLIKOV u. B.A.FEDORETS, Mater.Izuch.Zhen'shenya Drugikh Lek.Sredstv Dal'nego Vostoka 7, 133 (1966), ref. C.A. 68, 11649 y (1968)
- 114) T.L.BYKHOVTSOVA, Izv.Akad.Nauk SSSR, Ser.Giol. 6, 915 (1970), ref.C.A. 74, 51311 n (1971)
- 115) B.V.MONAKOV, Vop.Oncol. 13, 94 (1967), ref. C.A. 68, 1930 u (1968)
- 116) K.V.YAREMENKO, Mater.Izuch.Zhen'shenya Drugikh Lek.Sredstv Dal'nego Vostoka 7, 109 (1966), ref. C.A. 68, 11557 (1968)
- 117) A.WACKER u. H.-G.EILMES, Acta medica empirica 27, 346 (1978)
- 118) W.G.GOLOTTIN, ref. A.Curtze, Mitteilung (1976)
- 119) Y.H.HEUR, Dissertation Universität München (in Vorbereitung)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.H. Wagner.  
Ihm danke ich sehr herzlich für alle wissenschaftlichen Anregungen und Ratschläge, das große Interesse an dieser Arbeit und seine stete Förderung.

Bei den Herrn Professoren Shibata (Universität Tokio), Shoji (Universität Tokio), Tanaka (Universität Hiroshima) und Woo (Universität Seoul) bedanke ich mich herzlich für die zur Verfügung gestellten Reinsubstanzen und Drogenmuster und für hilfreiche Diskussionsbereitschaft während ihres Aufenthaltes am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre in München.

Für die Überlassung von Drogen, Drogenextrakten und Handelspräparaten danke ich dem Office of Monopoly des Central Research Instituts (Seoul), der Showa Universität (Tokio), den Firmen Blembel (Hamburg), Caesar und Loretz (Hamburg), Müggenburg (Hamburg), Klosterfrau (Köln), Scheurich (Appenweier), Hermes (Großhesselohe) und Zirkulin (Herdecke).

Mein Dank gilt auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung des Spektralfluorometers MPF-3 und der für die DC-Direktauswertung erforderlichen Zusatzgeräte, die die Durchführung dieser Arbeit ermöglichten.

Schließlich bedanke ich mich bei allen Kolleginnen und Kollegen für die gute Zusammenarbeit.



## LEBENS LAUF

Angelika Maria Obermeier, geb. Wurmböck

|                           |                                                                                                                                                         |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Geboren                   | 30. Januar 1946 in München                                                                                                                              |
| Eltern                    | Dr. Oscar Wurmböck<br>Erika Wurmböck, geb. Koch                                                                                                         |
| Schulbildung              |                                                                                                                                                         |
| September 52 - Juli 57    | Volksschule an der Senftenauerstraße,<br>München                                                                                                        |
| September 57 - Juli 58    | Mädchenrealgymnasium der Dominikanerinnen,<br>St. Maria an der Isar, Niederviehbach                                                                     |
| September 58 - Juli 66    | Rudolf-Steiner-Schule, München                                                                                                                          |
| 19. Juli 1966             | Abitur, Oskar-von-Miller-Gymnasium,<br>München                                                                                                          |
| Apothekenpraktikum        |                                                                                                                                                         |
| Oktober 66 - September 68 | Leonrod-Apotheke, München                                                                                                                               |
| Pharmaz. Vorexamen        |                                                                                                                                                         |
| 11. September 1968        | München                                                                                                                                                 |
| Studium der Physik        |                                                                                                                                                         |
| November 68 - Mai 70      | Ludwig-Maximilians-Universität München                                                                                                                  |
| Studium der Pharmazie     |                                                                                                                                                         |
| November 70 - Mai 74      | Ludwig-Maximilians-Universität München                                                                                                                  |
| Pharmaz. Staatsexamen     |                                                                                                                                                         |
| 14. Mai 1974              | München                                                                                                                                                 |
| Approbation als Apotheker |                                                                                                                                                         |
| 3. Juli 1974              | München                                                                                                                                                 |
| Wissenschaftl. Tätigkeit  |                                                                                                                                                         |
| November 74 - Dezember 75 | Wissenschaftliche Hilfskraft                                                                                                                            |
| Januar 76 - Februar 80    | Verwalter der Dienstgeschäfte eines<br>wissenschaftlichen Assistenten am<br>Institut für Pharmazeutische Arznei-<br>mittellehre der Universität München |
|                           | Promotionsarbeit unter Leitung von<br>Professor Dr. H. Wagner                                                                                           |









